

TRACERKINETISCHE
UNTERSUCHUNGEN
ZUR BEEINFLUSSBARKEIT
DES HEPATISCHEN
GLUCOSESTOFFWECHSELS
VON ZWERGZIEGEN
DURCH I.V. INFUSIONEN
VON GLUCOSE UND GLUCAGON

Bettina Dreyer

Disbui. München

1988



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554816_0057

Aus dem Institut für Physiologie, Physiologische
Chemie und Ernährungsphysiologie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. H. Zucker

Angefertigt unter der Leitung von
Priv. Doz. Dr. Dr. habil. M. Stangassinger

TRACERKINETISCHE UNTERSUCHUNGEN ZUR BEEINFLUSSBARKEIT
DES HEPATISCHEN GLUCOSESTOFFWECHSELS VON ZWERGZIEGEN DURCH
I.V. INFUSIONEN VON GLUCOSE UND GLUCAGON

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Bettina Dreyer
aus
Wasserburg/Inn
München 1988

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. M. Rüsse

Referent: Priv.Doiz.Dr.Dr.habil. M. Stangassinger

Korreferent: Prof. Dr. R. Gothe

Tag der Promotion: 29. Juli 1988

Diese Arbeit wurde aus Mitteln der
Deutschen Forschungsgemeinschaft
unterstützt.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1	EINLEITUNG
	1
1.1	Zum metabolischen Schicksal von Glucose in der Leber
	3
1.1.1	Allgemeine Eigenschaften der Glykolyse
	3
1.1.2	Allgemeine Eigenschaften des Glykogenstoffwechsels
	6
1.2	Problemstellung
	15
2	MATERIAL UND METHODEN
	22
2.1	Versuchstiere, Haltung und Fütterung
	22
2.2	Versuchsdurchführung
	23
2.2.1	Versuchsanordnungen
	24
2.2.2	Katheterimplantation
	27
2.2.3	Infusionslösungen
	29
2.2.4	Probengewinnung
	31
2.3	Analytische, präparative und radiometrische Methoden
	32
2.3.1	Enzymatische Bestimmung von Glucose
	32
2.3.2	Radioimmunologische Bestimmung von Insulin
	33
2.3.3	Präparation der Glucose zur Bestimmung der spezifischen Aktivität
	33
2.3.4	Präparation der Blutproben zur Bestimmung der $^{14}\text{CO}_2$ -Aktivität im Vollblut
	34
2.3.5	Flüssigszintillationsmessung
	35
2.4	Statistische Methoden
	37

3	ERGEBNISSE	37
3.1	Versuchsreihe A: Zum Glucosestoffwechselverhalten von hungernden Zwergziegen vor, während und nach experimentell induzierten, metabolischen "Ungleichgewichtsbedingungen" (Glucose- bzw. Glucagonbelastung)	37
3.1.1	Konzentrationsverlauf von Glucose und Insulin im Blutplasma	38
3.1.1.1	Auswirkung einer exogenen Glucosebelastung	38
3.1.1.2	Auswirkung einer Glucagonbehandlung	47
3.1.2	Verlauf der Radioaktivität und der spezifischen Radioaktivität von ^3H - und ^{14}C -Glucose im Blutplasma während bzw. nach einer i.v. Dauerinfusion von $[\text{6-}^3\text{H}]$ - und $[\text{U-}^{14}\text{C}]$ -Glucose	53
3.1.2.1	Auswirkung einer exogenen Glucosebelastung	53
3.1.2.2	Auswirkung einer Glucagonbehandlung	58
3.1.3	Veränderungen im Glucoseumsatz	66
3.1.3.1	Einfluß einer exogenen Glucosebelastung	73
3.1.3.2	Einfluß einer Glucagonbehandlung	76
3.2	Versuchsreihe B: Zum Glucosestoffwechselverhalten von hungernden bzw. hungernden und glucosuretischen Zwergziegen vor, während und nach experimentell induzierten, metabolischen "Ungleichgewichtsbedingungen" (Glucosebelastung bzw. Glucagonbehandlung)	81
3.2.1	Konzentrationsverlauf von Glucose im Blutplasma	82
3.2.1.1	Auswirkung einer exogenen Glucosebelastung	82
3.2.1.2	Auswirkung einer Glucagonbehandlung	84

3.2.2	Glucose- bzw. glucagoninduzierte Veränderungen im $[6-^3\text{H}]$ -spezifischen Glucoseumsatz	87
3.2.3.1	^{14}C -Transfer zwischen CO_2 und Glucose während einer exogenen Glucosebelastung	89
3.2.3.2	Glucagoninduzierte Veränderungen im Verlauf der ^{14}C -RA und ^{14}C -SA von Plasma-glucose	94
4	DISKUSSION	98
4.1	Beurteilung der katabolen Stoffwechselausgangslagen	98
4.2	Zu den metabolischen Auswirkungen einer exogenen Glucosebelastung	102
4.3	Zur hyperglykämischen Wirkung des Glucagons	108
4.4	Bewertung der Versuchsergebnisse und Schlußfolgerungen	119
5	ZUSAMMENFASSUNG	123
6	LITERATURVERZEICHNIS	129
7	TABELLARISCHER ANHANG	141

"The secret of living lies in the liver"

Dr. Douglas A. Hems (1938 - 1979)

1 EINLEITUNG

In der Zeit vor William HARVEY (1578 - 1657), dem Entdecker des großen Blutkreislaufes, wurde die Leber als das Zentrum des Kreislaufes betrachtet. Auch heute noch gilt die Leber als ein zentrales, aber weitaus vielschichtigeres Dienstleistungsorgan des Organismus. So ist sie einerseits für die Aufrechterhaltung der Energieversorgung verantwortlich, andererseits trägt sie z.B. durch die Bildung von Plasmaproteinen, durch die Synthese von Gallensäuren und durch die Biotransformation entscheidend zur Funktionserhaltung des Organismus bei. Die Leber ist demnach tatsächlich ein Zentrum von verschiedenen "Kreisläufen" und zwar von solchen, die den zwischengeweblichen Austausch von Nährstoffen gewährleisten. Diese Kreisläufe existieren, weil der Energiestoffwechsel in den Organen von intakten Tieren nicht nur zusammenhängend, sondern auch voneinander abhängig ist. Nicht nur die Funktion verschiedener Zellen ist spezialisiert, sondern auch deren Stoffwechsel, und zwar in dem Sinne, daß einige Zellen diejenigen Stoffe produzieren und speichern, die von anderen Zellen benötigt werden. Typische Beispiele hierfür sind die Fett-, die Leber- und die Muskelzelle, die Triglyceride bzw. Glykogen und Protein speichern. Der Muskel speichert dabei wie die Leber Glykogen, jedoch steht dieses Glucosepolymer anders als in der Leber nur derjenigen Zelle metabolisch zur Verfügung, die es speichert.

Wenn Nährstoffe direkt, d.h. aus der verdauten Nahrung, aufgenommen werden können, stellt die Speicherung z.B. von Energie in der Regel kein Problem dar. Die Utilisierung dieser Nährstoffe hängt jedoch von den Eigenschaften spezifischer Gewebe ab:

So sind z.B. das ZNS und die Erythrozyten einerseits nicht fähig eine Speicherform von Glucose zu synthetisieren,

andererseits jedoch ist Glucose der einzige Energieträger, den sie im gefütterten Zustand verwerten können. Dies bedeutet, daß diese Gewebe Glucose unmittelbar oxidieren, um Energie zu produzieren.

Im Muskel dagegen wird der größte Teil der im Ruhezustand aufgenommenen Glucose als Glykogen gespeichert, um später dann, wenn der Muskel arbeitet, genutzt zu werden.

In der Leber gefütterter Tiere wird dagegen nur ein geringer Teil der direkt aufgenommenen Glucose vollständig zu CO_2 und H_2O oxidiert, um ATP zu gewinnen. Die Hauptmenge, der in der Leber utilisierten Glucose - sie kann bis zu 50 % der während einer Mahlzeit absorbierten Glucose ausmachen - wird zu Glykogen umgebaut (maximale Speicherkapazität 65 g/kg Leber). Die nicht zur Auffüllung der Glykogenspeicher benötigte Glucose kann in vielfältiger Weise verstoffwechselt werden, so z.B. zu Fettsäuren, zu C_5 -Zuckern, zu Oligosacchariden, Glykoproteinen und Glykolipiden, zu CO_2 , H_2O und ATP sowie zu nichtessentiellen Aminosäuren.

Meistens ist jedoch eine direkte Verfügbarkeit von Nährstoffen auf relativ kurze Zeiträume begrenzt, so daß der Energiestoffwechsel - vom Umfang her gesehen - hauptsächlich postabsorptiv (ohne direkte Verfügbarkeit von Energie aus der Diät) ablaufen muß. Kennzeichnend hierfür ist, daß sich der Umfang der Glucoseoxidation zusehends verringert, während die Metabolisierungsrate von Fettsäuren deutlich ansteigt. Auch in der Leber reduziert sich die Glucoseutilisierung, hier jedoch zugunsten einer Glucoseabgabe aus Glykogen. Darüberhinaus scheinen bestimmte Stoffwechselwege (z.B. Gluconeogenese, Ketogenese) vorwiegend dazu entwickelt worden zu sein, um während einer Hungerperiode mit den auf dem Energiestoffwechsel lastenden Problemen fertigzuwerden. So kommt es bei Hunger zu einer Intensivierung der Gluconeogenese, die nach 24-48 Stunden ihr Maximum

erreicht hat. Das bevorzugte Substrat für diesen Prozess ist der Kohlenstoff von Aminosäuren, die dem Muskelprotein entstammen. Zwar trägt die gleichzeitig massiv ansteigende Freisetzung von freien Fettsäuren aus dem Fettgewebe keinen Kohlenstoff zur Gluconeogenese bei, aber die gesteigerte Fettsäurenoxidation in der Leber führt zu einer zunehmenden Produktion von Ketonkörpern, die dann ihrerseits z.B. im ZNS Glucose als Energieträger ersetzen können.

1.1 Zum metabolischen Schicksal von Glucose in der Leber

1.1.1 Allgemeine Eigenschaften der Glykolyse

Die Leber verwertet Glucose nur dann glykolytisch, wenn ein Sauerstoffmangel oder ein großer Überschuß an Glucose vorliegt (WOODS und KREBS, 1971; BRUNNENGRABER et al., 1973). So beträgt die glykolytische Rate bei physiologischen Glucosekonzentrationen annähernd $0,5 \mu\text{mol Lactat} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$. Sie kann aber auf das Vierfache ansteigen, sobald die portale Glucosekonzentration z.B. fütterungsbedingt zwischen 20 und 40 mmol/l liegt (WOODS und KREBS, 1971; HUE, 1982). Vermutlich besteht der Hauptzweck der hepatischen Glykolyse nicht so sehr in einer ATP-Bereitstellung, sondern vielmehr in der Umwandlung von Kohlenhydraten in Fett, denn die maximalen Raten der hepatischen Fettsäure- und Triglyceridsynthese von $1-1,7 \mu\text{mol C}_2\text{-Einheiten} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ stimmen recht gut mit der Glykolyserate nach reichlicher Glucoseresorption überein (WOODS und KREBS, 1971; BRUNNENGRABER et al., 1973).

Zwar ist der glykolytische Stoffwechselweg in allen Geweben gleich, aber die Art und Weise wie der Glucoseflux dabei reguliert wird, ist in der Leber einzigartig. So stellt z.B. im Skelettmuskel und im Fettgewebe der Eintritt von Glucose in die Zelle einen durch Insulin regulierten

Vorgang dar (PRIOR und SMITH, 1982). Im Gegensatz dazu hat Insulin keinen Effekt auf die Glucosekonzentration in Hepatozyten. Obwohl die Hepatozytenmembran für Glucose nicht frei permeabel ist und die Glucoseaufnahme carrierabhängig verläuft, äquilibriert die Glucosekonzentration im Hepatozyt rasch mit derjenigen im zuführenden Blut (CAHILL et al., 1958). Außerdem können Hepatozyten Glucose weder ausschließen noch konzentrieren. Dies ist ein kritischer Faktor für die Regulation der Glykogensynthese und der Glykolyse, denn die Rate beider Stoffwechselwege ist direkt proportional zur Glucosekonzentration im Hepatozyt (HERS und HUE, 1983). Man kann deshalb davon ausgehen, daß beide Stoffwechselwege Mechanismen beinhalten, welche durch die hepatische Glucosekonzentration gesteuert werden.

Der günstigste Angriffspunkt zur Regulation eines Stoffwechselweges befindet sich immer am Anfang, d.h. bei der Einschleusung des Substrates (hier: bei der Phosphorylierung von Glucose zum Glucose-6-Phosphat), denn dadurch wird die nutzlose Anhäufung von Intermediärprodukten vermieden. In der Leber erfolgt diese Phosphorylierung durch ein spezifisches Isoenzym der Hexokinase, bezeichnet als Glucokinase (WEINHOUSE, 1976). Diese Glucokinase und die Hexokinase in den anderen Geweben unterscheiden sich in verschiedener Hinsicht. Der wichtigste Unterschied liegt in der Affinität gegenüber Glucose (HERS und HUE, 1983). Während die nicht-hepatische Hexokinase bereits bei einer Glucosekonzentration von rund 0,3 mmol/l gesättigt ist, liegt die halbmaximale Umsatzrate der hepatischen Glucokinase bei rund 10 mmol/l. Die physiologische Konsequenz dieser Affinitätsunterschiede gegenüber Glucose ist, daß die Hexokinase bereits bei Glucosekonzentrationen gesättigt ist, die weit unter dem physiologischen Glucosespiegel liegen. Die Aktivität der Glucokinase dagegen ändert sich sobald die Glucosekonzentration fluktuiert, und zwar infolge der leicht sigmoiden Sättigungskurve am deutlichsten im Bereich physiologischer Konzentrationsänderungen.

Die Glucokinase ist ein adaptives Enzym (WEINHOUSE, 1976). Dies bedeutet, daß die Enzymmenge in der Leber nicht nur von der Anwesenheit von Glucose, sondern auch von Insulin abhängt. So sinkt die Aktivität der Glucokinase z.B. bei hungernden bzw. alloxandiabetischen Ratten fast auf Null ab, und zwar unabhängig davon, ob den Tieren Glucose gefüttert wurde oder nicht (HERS und HUE, 1983). Die Repletion von Glucose zusammen mit Insulin stellt dagegen die Aktivität von Glucokinase wieder vollständig her. Derartige hormonelle Änderungen der Glucokinaseaktivität erfolgen jedoch relativ langsam. So tritt das Reaktionsmaximum erst 24-48 Stunden nach dem Beginn einer Manipulation auf. Hormoninduzierte Aktivitätsveränderungen sind somit nicht verantwortlich für die rasch erfolgende glykolytische Anpassung, wie sie bei normalen Fütterungsintervallen zu beobachten ist, wohl aber für den unter der Norm liegenden hepatischen Respons, der nach einer Glucosezufuhr bei hungernden Tieren auftritt.

Neben der Glucosephosphorylierung, welche die Glykolyserate der Leber bei gefütterten Tieren maßgeblich bestimmt, existiert jedoch noch ein zweiter Regulationsmechanismus für den Glucosekohlenstofffluß durch den glykolytischen Stoffwechselweg: die Aktivität der 6-Phosphofructokinase. Dieses Enzym unterliegt in der Zelle einer dynamischen Regulation sowohl durch die Konzentration von Intermediärprodukten (z.B. ATP, Fructose-6-Phosphat) wie auch durch Phosphorylierungs- und Dephosphorylierungszyklen (HERS und HUE, 1983). Die Bedeutung dieses Enzyms für die Regulation der Glykolyse von gefütterten Tieren ist gering. Sein regulativer Einfluß kommt vorwiegend beim Übergang vom Fütterungszustand zum postabsorptiven Zustand sowie bei einem raschen, hepatisch bedingten Blutglucoseanstieg zum Tragen (siehe auch 1.1.2).

1.1.2 Allgemeine Eigenschaften des Glykogenstoffwechsels

Tiere speichern Glucose in einer polymeren Form, dem Glykogen, das einen vernachlässigbar kleinen osmotischen Druck ausübt und bei Bedarf rasch abgebaut werden kann. In den meisten Geweben stellt Glykogen ein glykolytisches Substrat dar, das zur lokalen Energiebereitstellung dient, wenn ein Mangel an Glucose oder Sauerstoff vorliegt. Im Gegensatz dazu ist das Glykogen der Leber für das Organ selbst von geringem energetischen Nutzen (KREBS, 1972).

Synthese und Abbau von Glykogen erfolgen über getrennte Stoffwechselwege und werden durch verschiedene hormonale Faktoren sowie durch den Glucosespiegel im Blut reguliert (siehe Abbildung 1). Der Zweck, der mit einer solchen Trennung verfolgt wird, besteht darin, eine unabhängige Kontrolle beider Prozesse, eine genaue Abstimmung der Flußraten sowie eine rasche Aktivierung bzw. Inaktivierung einzelner Abschnitte des jeweiligen Stoffwechselweges zu erzielen (HUE, 1981). Da beide Wege kontinuierlich ablaufen, muß der eine oder andere Weg jeweils dominieren, wenn es die Bedürfnisse des Tieres erfordern. Die Folge des gleichzeitigen Ablaufes beider Wege ist ein "nutzloser" Substratzyklus zwischen Glucose und Glykogen, dessen Bedeutung wie bei jedem anderen Substratzyklus darin zu sehen ist, daß er eine rasche Anpassung (z.B. durch Beschleunigung oder Abbremsung) an die jeweilige Stoffwechselsituation ermöglicht (KATZ und ROGNSTAD, 1978).

Auf enzymatischer Ebene wird die Rate der Synthese bzw. des Abbaus von Glykogen durch die Aktivität der Glykogensynthetase bzw. der Phosphorylase reguliert (siehe Abbildung 1). Beide, die jeweilige Flußrate limitierenden Enzyme existieren in zwei Formen - einer aktiven (a) und einer inaktiven (b) - die jeweils durch Phosphorylierungs- und Dephosphorylierungsreaktionen ineinander umwandelbar sind.

Dem ursprünglichen Vorschlag von SOSKIN (1940) folgend gilt es heute als allgemein akzeptiert, daß es das Glucosemolekül selbst ist, das Synthese bzw. Abbau von Glykogen innerhalb der Leberzelle kontrolliert. Diese Vorstellung impliziert, daß in der Leber, die im Gegensatz zum Muskel für Glucose frei permeabel ist (CAHILL et al., 1958; KIPNIS et al., 1959; WILLIAMS et al., 1968), ein oder mehrere Proteine vorliegen, die in der Lage sind freie Glucose zu binden, um dadurch ihre Konzentration zu erkennen. Zwei Enzyme, die im Glykogenstoffwechsel involviert sind, haben diese Eigenschaft. Dies sind die Glucokinase, die den ersten Schritt der Glykogensynthese kontrolliert und eine hohe Michaeliskonstante für Glucose hat (siehe auch 1.1), sowie die Phosphorylase, deren Affinität für die PhosphorylasePhosphatase und damit die Dephosphorylierung zur inaktiven Phosphorylase b durch Glucose stark beeinflußt wird (STALMANS et al., 1974).

Letzteres Enzym kontrolliert den ersten Schritt des Glykogenabbaus und über den in Abbildung 1 wiedergegebenen sequentiellen Mechanismus auch den letzten Schritt der Glykogensynthese, katalysiert durch die Glykogensynthetase. Da der Haupteffekt von freier Glucose in der Leberzelle entweder auf die Glucokinase oder auf die Phosphorylase ausgerichtet ist, könnte ein Glucoseüberschuß entweder über "Druck" oder über "Sog" auf den Reaktionsablauf die Glykogensynthese beeinflussen. Bis 1967 galt die Vorstellung, daß eine erhöhte Glucosekonzentration eine erhöhte Konzentration an Hexosemonophosphaten bedingt, die dann über einen "Druck" auf die Glykogensynthetase den Syntheseweg der Glykogensynthese initiieren. Diese Ansicht mußte jedoch aufgrund der Untersuchungen von DE WULF und HERS (1967) revidiert werden. Sie beobachteten an mit Glucose belasteten Mäusen innerhalb weniger Minuten eine massive Abnahme von Glucose-6-Phosphat und UDP-Glucose in der Leber und gleichzeitig einen starken Anstieg der Glucoseeinbaurrate ins Leberglykogen, der mit einem Aktivitätsanstieg der Glykogensynthetase einherging. Zudem konnten sie auch

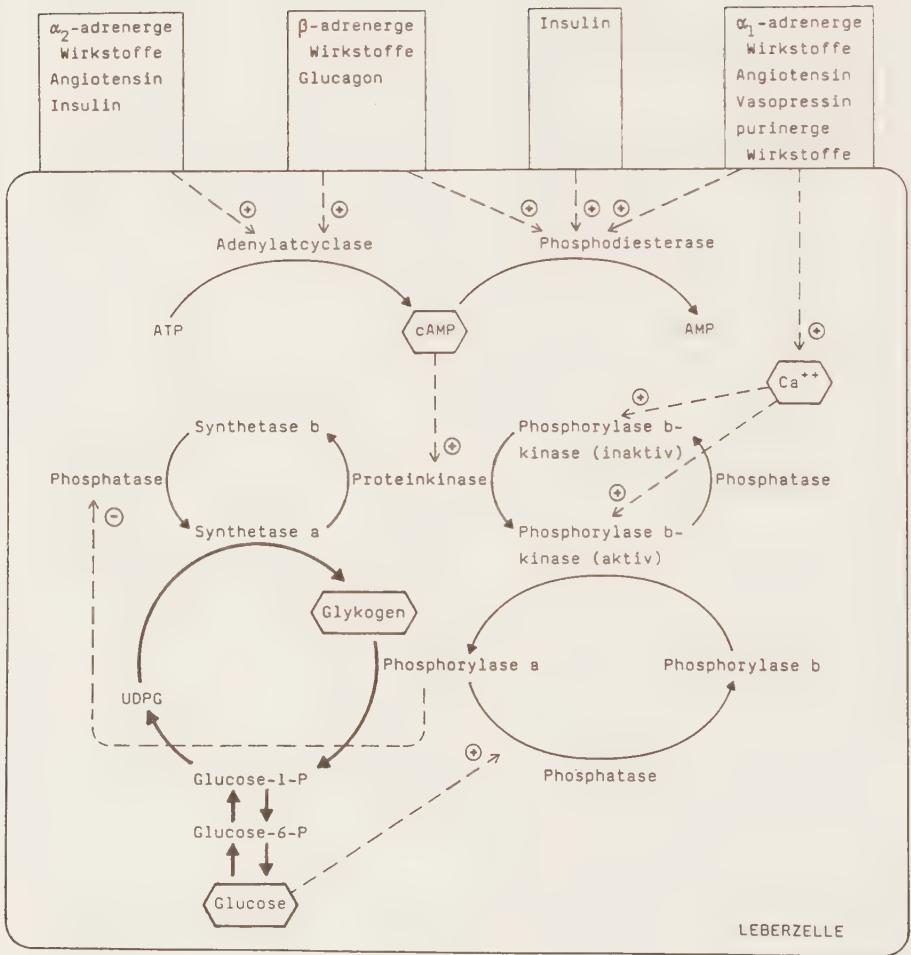


Abbildung 1: Kontrolle des Glykogenstoffwechsels in der Leber

zeigen (DE WULF et al., 1968), daß zwar die Glykogensynthese proportional zur Synthetase a-Aktivität verläuft, aber weder Glucose noch Glucose-6-Phosphat einen direkten Effekt auf die Synthetase-Phosphatase haben, um dadurch einen "Druck" auf den Syntheseweg auszuüben. So ist heute die vorherrschende Meinung (siehe HERS, 1976 und 1981), daß die Stimulation der Glykogensynthese über einen "Sogmechanismus" erfolgt, bei dem die Aktivitätssteigerung des letzten Enzyms im Syntheseweg (über das Verschwinden ihres physiologischen Inhibitors Phosphorylase a) auch die vorher erwähnte rasche Abnahme der vorgeschalteten Intermediärprodukte Glucose-6-Phosphat und UDP-Glucose verursacht.

ZAKIM (1984) faßte die Sequenz der Abläufe der hepatischen Glykogenproduktion bei erhöhter Glucosezufuhr wie folgt zusammen:

1. Der Anstieg der Glucosekonzentration im Hepatozyt mit
2. Bindung der Glucose an Phosphorylase a und einer dadurch zunehmenden Inaktivierung dieses Enzyms bedingt
3. eine progressive Abnahme der Glykogenolyse.
4. Die Abnahme der Phosphorylase a-Aktivität auf einen Schwellenwert induziert schließlich
5. eine Aktivierung der Glykogensynthetase und
6. den Start der Glykogensynthese.

Die Induktion dieser Abläufe kann innerhalb von 2 Minuten nach einer Glucoseinfusion abgeschlossen sein, wobei festzuhalten ist, daß die Glykogenolyse reprimiert werden kann, ohne daß gleichzeitig die Glykogensynthese aktiviert wird.

Die Menge an Glykogen, die von Geweben akkumuliert wird, ist über einen Rückkoppelungsmechanismus limitiert und zwar gewebespezifisch auf unterschiedlichen Niveaus. Ein wichtiger Grund für diese Beschränkung der Speicherkapazität mag darin zu sehen sein, daß jedes Gramm Polysaccharid ca. 2,4 g Wasser zurückhält. Bei einer lebertypischen Maximalkonzentration von rund 10 % beansprucht allein das hydrierte Glykogen rund 34 % des gesamten Zellvolumens (HERS, 1981). Als Hauptmechanismus über den Glykogen seine eigene Konzentration reguliert, gilt die Hemmung der Enzyme Synthetase-Phosphatase und Phosphorylase-Phosphatase, die beide an Glykogen gebunden vorliegen (VAN DE WERVE, 1981) sowie die Aktivierung der Phosphorylase-Kinase. Dies bedeutet: Sind die Glykogenspeicher entleert wie z.B. beim hungernden Tier, dann existiert keine Einschränkung der Phosphatasenaktivität, wodurch eine Inaktivierung der Phosphorylase a (minimale Glykogenolyse) sowie eine Aktivierung der Synthetase a (maximale Glykogensynthese) gewährleistet wird. Sind die Glykogenspeicher aufgefüllt, dann wird die Synthetase a nicht weiter aktiviert (Stop der Glykogensynthese), die Inaktivierung der Phosphorylase a wird aufgehoben und gleichzeitig die Stimulation der Phosphorylase-Kinase (Initiierung der Glykogenolyse) ermöglicht.

Der Sinn dieses homöostatischen Kontrollsystems liegt darin, daß dadurch beides, sowohl eine exzessive Anhäufung wie auch eine vollständige Erschöpfung der hepatischen Glykogenreserven z.B. während einer Fütterungs- bzw. Hungerperiode vermieden werden kann.

Das kritische metabolische Ereignis beim Glykogenstoffwechsel der Leber im postabsorptiven Zustand ist der Übergang von der Synthese (die Umsatzraten von Glucose zu Glykogen liegen in der Regel nahe bei $1 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$) auf den Abbau des Glykogens (durch Hypoglykämie bzw. hormonale Stimulation können Glykogenmobilisierungsraten von annähernd $2 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ induziert werden; HERS, 1976). Die

Sequenz der Veränderungen, die zum Nettoabbau von Glykogen führt, ist im wesentlichen eine Umkehr der vorher beschriebenen Synthesesequenz. Die Aktivierung der Glykogenolyse allein reicht jedoch für die hepatische Abgabe von Glucose nicht aus, denn vorwiegend Glucose-1-Phosphat und nicht freie Glucose ist das Hauptprodukt der Katalyse durch die Phosphorylase (siehe Abbildung 2). Nur 10 % der im Glykogen insgesamt gebundenen Glucose liegt in 1,6- α -Bindung vor, aus der bei fortschreitender, intensiver Glykolyse mit Hilfe der Amylo(1-6)-Glucosidase in geringerem Umfang auch freie Glucose direkt abgespalten werden kann (DEVOS und HERS, 1979 und 1980).

Das in Lyosomen gespeicherte Glykogen, das mindestens 10 % des hepatischen Gesamtglykogens ausmacht (GEDDES und STRATTON, 1977) und von dem hydrolytisch mit Hilfe der 1,4-Glucosidase ebenfalls freie Glucose abgespalten werden kann, wird nur unter extremen Situationen nach einer Lyosomenruptur wie z.B. bei anhaltend schwerer Glucosurie sowie bei postnataler und postmortaler Glykogenolyse (GEDDES, 1986) mobilisiert.

Um aus dem phosphorylytisch mobilisierten Glucose-1-Phosphat dann über Glucose-6-Phosphat freie Glucose zu erhalten, muß die Möglichkeit eines glykolytischen Abbaus durch effektive Hemmechanismen verhindert werden. Dies bedeutet, daß Glucose-6-Phosphat aus Glykogen zur Glucose-6-Phosphatase geleitet werden muß. Hilfreich hierfür ist die Tatsache, daß diejenigen glykolytischen Enzyme, die Einwegsreaktionen katalysieren (6-Phosphofructokinase, Pyruvatkinase) in ihrer Aktivität durch Phosphorylierung bzw. Dephosphorylierung reguliert werden (HERS und HUE, 1983). Hinzu kommt, daß deren Aktivität auch durch Konzentrationsänderungen ihrer Ausgangssubstrate bzw. Reaktionsprodukte reguliert werden kann (HERS und HUE, 1983). Derartige z.B. substratinduzierte Aktivitätsänderungen erlauben jedoch nur eine vergleichsweise langsame Veränderung im

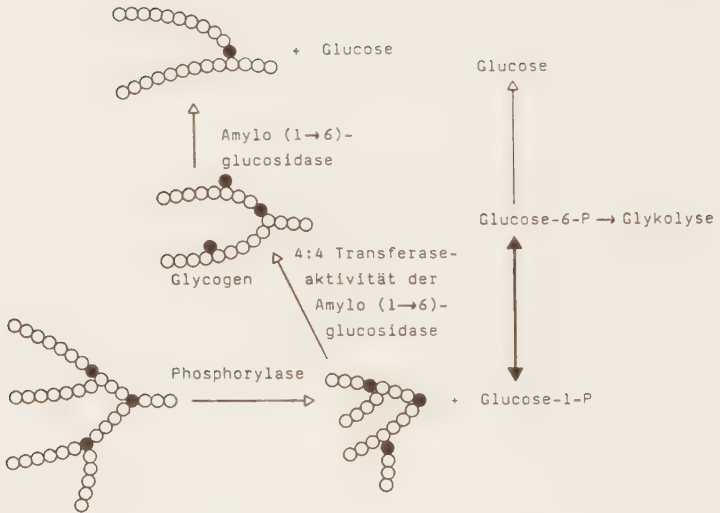


Abbildung 2: Hemmung der Glykolyse durch die Regulierung der Aktivitäten von 6-Phosphofructokinase und Pyruvatkinase (nach ZAKIM und BOYER, 1982)

Gleichgewicht zwischen hepatischer Glucoseproduktion und -utilisation, sodaß auf rasche Glucosekonzentrationsveränderungen im Blut nicht effektiv genug reagiert werden kann. Hier können nur hormonal induzierte Enzymaktivitätsänderungen zum Tragen kommen. So kann z.B. eine glucagon-induzierte (für andere Hormone siehe Abbildung 1 bzw. die Übersicht von WHITTON, 1981) Aktivierung der Adenylatcyclase über eine Erhöhung des c-AMP-Spiegels rasch die Glykogenolyse aktivieren (WHITTEN, 1981) und gleichzeitig die Glykolyse inaktivieren (HERS und HUE, 1983). Jeder rasche Anstieg von c-AMP in der Leber (siehe Abbildung 1) führt somit über eine Serie von Phosphorylierungen (Phosphorylase a, 6-Phosphofructokinase, Pyruvatkinase) zu einer Aktivierung der Glykogenolyse sowie einer gleichzeitigen Inaktivierung der Glykolyse und maximiert dadurch rasch den Kohlenstofffluß von Glykogen über Glucose-6-Phosphat hin zu freier Glucose (siehe Abbildung 3). Außerdem ist bei einer Betrachtung des hepatischen Glykogenstoffwechsels zu berücksichtigen, daß der Kompartimentierung von Enzymen, die verschiedene metabolische Stoffwechselwege katalysieren, zunehmend eine entscheidende Rolle für die metabolische Heterogenität, wie sie in zahlreichen Geweben und Organen zu beobachten ist, zugeschrieben wird. So haben z.B. Untersuchungen mit Mikroschnitten ebenso wie histochemische Studien an der Rattenleber gezeigt, daß hohe Aktivitäten der Enzyme Glykogenphosphorylase, Glykogensynthetase, Fructose-1,6-bisphosphatase und Glucose-6-Phosphatase vorwiegend in periportalen Hepatozyten lokalisiert sind (SASSE et al., 1975), die Aktivitäten der Enzyme Glucokinase und Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase dagegen vorwiegend in den zentrolobulären, perivenösen Hepatozyten aufzufinden sind (TEUTSCH, 1981; LAWRENCE et al., 1984). Eine derartige zonale, funktionale Heterogenität des Leberparenchyms läßt sich jedoch schwer mit der Vorstellung vereinbaren, daß es vorwiegend überschüssige, portal resorbierte Glucose ist, die direkt zur Leberglykogenbil-

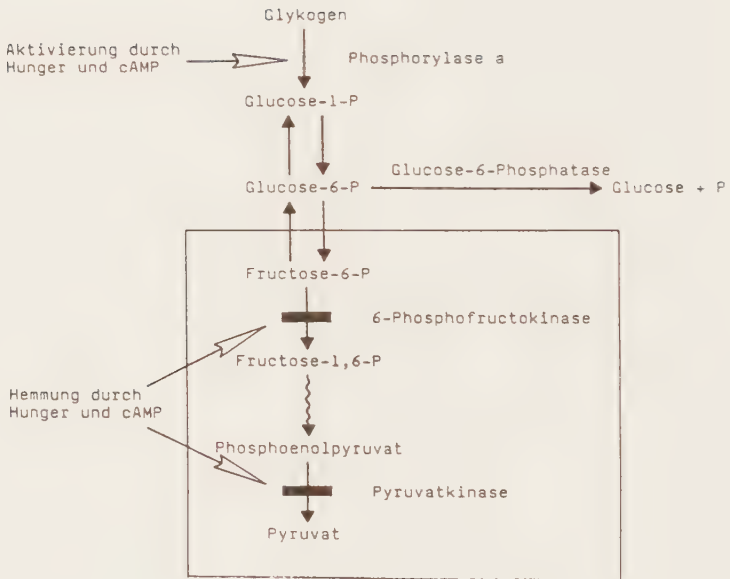


Abbildung 3: Ablauf der Glykogenolyse in der Leber
(nach ZAKIM und BOYER, 1982)

dung beiträgt. Andererseits unterstützt sie aber die in den letzten Jahren gehäuft auftretenden biochemischen Hinweise, die vermuten lassen, daß die Masse des Glykogens (entstanden nach einem Übergang vom hungernden zum gefütterten Zustand) einer gluconeogenetischen Vorstufen (Glucosemetaboliten) als freier 'Glucose direkt entstammt (für eine Übersicht siehe KATZ et al., 1976; NEWGARD et al., 1983; SPENCE und KOUDELKA, 1985; PILKIS et al., 1985). Darüberhinaus stimmt diese enzymatische Heterogenität der Leber auch mit mikroskopischen Daten bezüglich der Dynamik der hepatischen Glykogendeposition nach dem Füttern überein (WELSH, 1972; BABCOCK und CARDELL, 1974; SASSE, 1975). Diese zeigen nämlich, daß bei beginnender Glykogenablagerung zunächst die perivenöse Region (Glykogensynthese direkt aus Glucose) betroffen ist, wohingegen die periporale Ablagerung (über gluconeogenetische Vorstufen) erst später, und zwar unter den Bedingungen der maximalen Glykogenakkumulation sichtbar wird.

1.2 Problemstellung

Zu den besonderen Verdauungsprinzipien der Wiederkäuer gehört die mikrobielle Umsetzung von Nahrungskohlenhydraten zu kurzkettigen Fettsäuren (insbesondere Essig-, Propion- und Buttersäure) im Pansen. Die stoffwechselphysiologische Bedeutung dieser Fermentationsprodukte für den Wiederkäuerorganismus läßt sich daran erkennen, daß ihr Ernährungsbeitrag bis zu 80 % der insgesamt verdauten und resorbierten Energie ausmachen kann (z.B. BUGAUT, 1987). Trotz dieser Gegebenheit setzen Wiederkäuer Glucose mit einer Rate um, die unter Erhaltungsbedarfsbedingungen nur unwesentlich niedriger ist als bei Nichtwiederkäuern (siehe z.B. BERGMAN, 1983; STANGASSINGER, 1986) und unter Produktionsbedingungen sogar um ein Vielfaches höher liegt (z.B. VAN DER WALT, 1984).

Da aufgrund der vorgeschalteten besonderen Verdauungsverhältnisse bei rauhfutterreicher Fütterung sowie auch wegen einer deutlichen Limitation der postruminalen Verdauung und Resorption von Nahrungskohlenhydraten aus getreidereichen Futterrationen (COOMBE und SIDONS, 1973; ØRSKOV et al., 1979) keine (ARMSTRONG und BEEVER, 1969) bzw. nur unbedenkliche Mengen von Glucose per se (JANES et al., 1985) aus dem Verdauungstrakt resorbiert werden, bedeutet dies, daß auch gefütterte Wiederkäuer permanent auf die endogene Produktion von Glucose aus exogenen und endogenen Vorstufen angewiesen sind. Damit wird die Verfügbarkeit von glucogenen Substraten in jedem Fall zu einem entscheidenden Faktor für die Aufrechterhaltung der Glucosehomöostase und möglicherweise auch für das Anlegen von Glucosespeichern z.B. in Form von Leberglykogen. Verschiedene Enzymmessungen z.B. an Leber, Muskel und Fettgewebe haben nämlich gezeigt, daß mit der funktionellen Entwicklung des Pansens und der damit verknüpften reduzierten Verfügbarkeit von Nahrungsglucose auch eine deutliche Abnahme der Hexosephosphorylierung und -oxidation sowie ein Anstieg der gluconeogenetischen Kapazität in der Leber einhergehen (eine Übersicht siehe STANGASSINGER und GIESECKE, 1986).

Das offensichtliche Fehlen einer Glucokinase in der Leber (BALLARD und OLIVIER, 1964), der vergleichsweise niedrige Blutglucosespiegel - auch nach der Nahrungsaufnahme - sowie die niedrige Michaeliskonstante der Leberhexokinase, die weit unter der Normoglycämie liegt, und deren allosterische Hemmung durch Glucose-6-Phosphat (SÖLING und KLEINEKE, 1976) unterstützen die inzwischen allgemein akzeptierte Ansicht, daß eine direkte hepatische Aufnahme von Glucose zum Zwecke der Speicherung (Glykogensynthese) oder Verstoffwechslung (Glykolyse, Fettsynthese) beim Wiederkäuer vernachlässigbar gering ist.

Überraschenderweise zeigen aber eine Reihe von Untersuchungen in vitro (z.B. BALLARD und OLIVER, 1964) und in vivo (z.B. BARTLEY et al., 1966; BAIRD und HEITZMANN, 1970; BAIRD et al. 1972; TREACHER et al., 1976), daß auch bei Wiederkäuern (hier: Schaf und Rind) der Leberglykogengehalt mit der Verfügbarkeit von Glucose variieren kann. Inwieweit diese Zunahme des Leberglykogens, z.B. bei einer gesteigerten Glucoseverfügbarkeit, über einen weiteren enzymatischen Phosphorylierungsmechanismus, nämlich der von NORDLIE (1976) postulierten Phosphotransferaseeigenschaft der Glucose-6-Phosphatase ermöglicht wird und/oder unter weitgehender Umgehung eines direkten Glucoseeinbaus über das beim Wiederkäuer in reichlichem Maße neu synthetisierten Glucose-6-Phosphat (z.B. in Form eines Cori-Recyclings) erfolgt, bedarf jedoch noch der experimentellen Klärung.

In ersterem Fall wäre zu erwarten, daß bei entsprechenden in vivo-Messungen an leberglykogendepletierten Tieren nach exogener Glucosezufuhr das "nutzlose" (futile) Recycling zwischen Glucose und Glucose-6-Phosphat ansteigt^{a)}. Auch die Transferaseaktivität der Glucose-6-Phosphatase könnte nämlich zusammen mit der Hydrolyseaktivität von Glucose-6-Phosphatase und in Verbindung mit einer metabolischen Zonierung der Leber einen sogenannten intrahepatischen Glucose/Glucose-6-Phosphat-Zyklus verursachen, der bei in vivo-Messungen von einem intrazellulären Substratzyklus (unter Beteiligung von Glucokinase und Glucose-6-Phosphatase) nicht zu unterscheiden wäre. Tatsächlich konnte von STANGASSINGER (STANGASSINGER und GIESECKE, 1986;

a) Beide Enzyme (Glucose-6-Phosphat-Transferase und Glucose-6-Phosphat-Hydrolase) sind durch hohe Michaeliskonstanten charakterisiert, die gewöhnlich die Konzentration von Glucose bzw. Glucose-6-Phosphat in der Leber weit überschreiten, was bedeutet, daß die Aktivität beider Enzyme im wesentlichen durch die jeweilige Substratkonzentration kontrolliert wird. Die Folge davon ist, daß ein Konzentrationsanstieg des Substrates für die eine Reaktion gleichzeitig auch die Umwandlung in das Substrat für die Rückreaktion beschleunigt und dadurch ein "nutzloser" (futile) Zyklus gebildet wird.

STANGASSINGER, 1986) erstmals gezeigt werden, daß bei Wiederkäuern ein Glucose/Glucose-6-Phosphat-Zyklus existiert und daß sein Umfang durch einen Mangel bzw. einen Überfluß an Glucose erheblich reduziert bzw. gesteigert werden kann.

Die zweite Annahme, eine Glykogenbildung aus synthetisiertem Glucose-6-Phosphat in der Leber von Wiederkäuern, erscheint aus zwei Gründen wahrscheinlich. Zum einen zeigen in vivo erhaltene Befunde, daß bis zu 80 % des von der Wiederkäuerleber aus dem Pfortaderblut aufgenommenen Lactats nicht in Form von Glucose wieder abgegeben werden, sondern in der Leber "verschwunden" bleiben (BAIRD et al., 1983). Zum anderen konnte bei der Ratte (NEWGARD et al., 1983) und beim Menschen (RADZIUK, 1979) nach oraler Glucosebelastung gezeigt werden, daß der größere Teil des neu gebildeten Leberglykogens nicht aus neu phosphorylierter Glucose, z.B. während der ersten Leberpassage, entsteht, sondern auf eine Gluconeogenese nach peripherer Glucosemetabolisierung (Recycling !) zurückzuführen ist.

Würde die Glykogenese in der Wiederkäuerleber ebenfalls über Glucosemetabolite ablaufen, so müßte bei entsprechenden Messungen eine erhebliche Zunahme des Recyclings über Oxalacetat nach exogener Glucosezufuhr zu verzeichnen sein. Die anhand von zahlreichen Glucoseumsatzmessungen gewonnene Ansicht, daß überschüssige Glucose zu einer Reprimierung der hepatischen Gluconeogenese führt, wäre dann nicht mehr vertretbar. Durch überschüssige Glucose würde somit nur die Abgabe von freier Glucose in der Leber, nicht aber die Gluconeogenese bis zum Glucose-6-Phosphat (zur Glykogenbildung) unterdrückt werden.

Isotopenstudien an Wiederkäuern haben zwar übereinstimmend ergeben, daß eine Glucosebelastung die endogene Glucoseproduktion auffällig erniedrigt (ANNISON und WHITE, 1961; BARTLEY und BLACK, 1966; WEST und PASSEY, 1967; JUDSON und

LENG, 1973; THOMPSON et al., 1975; PRIOR und CHRISTENSON, 1978; CHAIYABUTR et al., 1983), sie konnten aber weder einen direkten Beweis dafür liefern, wie Glucose per se diese Veränderung zustandebringt, noch konnten sie klären, welche Rolle dem erhöhten Insulinspiegel dabei zukommt. Unklar blieb auch, warum sich der reprimierende Effekt einer Glucosebelastung auf die Gluconeogenese in Abhängigkeit vom Stoffwechselstatus deutlich unterschied, und zwar in der Form, daß bei hungernden (WEST und PASSEY, 1967; STANGASSINGER, 1986) oder laktierenden Wiederkäuern (BAIRD et al., 1980; CHAIYABUTR et al. 1983) eine sehr viel deutlichere Abnahme der endogenen Glucoseproduktion zu verzeichnen war.

Setzt man bei diesen Tieren eine starke Glykogenepletion voraus und nimmt zudem an, daß bei einer exogenen Glucosebelastung deshalb eine starke Glykogenrepletion erfolgt und zwar aus synthetisiertem Glucose-6-Phosphat (siehe oben), so wäre damit eine nur geringe hepatische Abgabe von freier Glucose verbunden und die gegenüber den Stoffwechselnormaltieren stärkere Reprimierung der endogenen Glucoseproduktion durch exogene Glucosezufuhren erklärbar.

Auch wenn eine nutritiv bedingte direkte Glucoseverfügbarkeit bei Wiederkäuern nur unter ganz bestimmten Fütterungsbedingungen von praktischer Relevanz ist, so erscheint der Zustand der Hyperglycämie experimentell betrachtet dennoch als wichtig, weil nur dadurch grundlegende Prinzipien der Regulation des Kohlenhydratstoffwechsels in der Leber endgültig geklärt werden können.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, mit Hilfe einer differenzierten Radioisotopen-Verdünnungstechnik in vivo und computergestützten Turnoverberechnungen einen qualitativen und quantitativen Einblick in den hepatischen Kohlenhydratstoffwechsel des "hyperglykämischen" Wiederkäuers zu erhalten. Folgende Fragen standen dabei im Vordergrund:

Ist der leberglykogendepletierte Wiederkäuer in der Lage nach exogener Glucosezufuhr seine Glykogenreserven rasch und möglichst umfangreich wiederaufzufüllen ?

Welcher Anteil der Glykogensynthese entfällt auf einen direkten Einbau (gleichzusetzen mit der Aufnahme von Glucose in die Leber und Phosphorylierung zum Glucose-6-Phosphat) bzw. auf einen indirekten Einbau von Glucose (gleichzusetzen mit der Synthese von Glucose-6-Phosphat aus Metaboliten der zugeführten Glucose) ?

Da eine direkte Untersuchung bezüglich Umfang und Dynamik des Leberglykogenstoffwechsels mit Hilfe frequenter Leberbiopsien aus tierschützerischen und ökonomischen Gründen nicht in Betracht kam, sollte ein Einblick in den Glykogenstoffwechsel in vivo in Anlehnung an Versuche am Menschen (RADZLUK, 1979 und 1982) anhand folgenden experimentellen Vorgehens erzielt werden:

1. Depletion der hepatischen Glykogenreserven mittels mehrtägigen Futterentzugs bzw. mittels Futterentzugs und phlorizininduzierter Glucosurie und Darstellung des endogenen Glucoseumsatzes mit Hilfe der i.v. Dauerinfusion von $[6-^3\text{H}]$ -Glucose;
2. Repletion der hepatischen Glykogenspeicher mittels einer i.v. Glucosedauerbelastung und der gleichzeitigen Applikation eines ^{14}C -Tracers (z.B. $[\text{U}-^{14}\text{C}]$ -Glucose oder $\text{NaH}^{14}\text{C O}_3$);
3. Erholungsphase zur Normalisierung des Blutglucosespiegels und des endogenen (^3H -markierten) Glucoseumsatzes;

4. Mobilisierung des neugebildeten^{a)} ^{14}C - und ^3H -markierten Glykogens mit Hilfe einer Glucagoninfusion und gleichzeitige Darstellung der hepatischen Glucoseabgaberate aus Glykogen an die Zirkulation anhand der Veränderung der spezifischen Radioaktivität von ^3H -Glucose im Blut.

Der Umfang der finanziellen Aufwendungen für in vivo-Experimente mit mehrstündiger Tracer- und Hormondauerapplikation sowie die erforderlichen Strahlenschutzmaßnahmen im Zusammenhang mit der weiteren Haltung kontaminierter Tiere sowie bei der Abfallbeseitigung zwingen dazu, derartige Untersuchungen nur an einer begrenzten Anzahl von Tieren mit möglichst geringem Körpergewicht durchzuführen. Deshalb wurde die Afrikanische Zwergziege als Versuchstier gewählt. Sie hatte sich bereits in zahlreichen Stoffwechselversuchen als sogenannter "Laborwiederkäuer" besonders hinsichtlich Trainierbarkeit und Gewohnung an Versuchshandhabung hervorragend bewährt (PERUCHE, 1981; KLOE, 1983; BENDISCH, 1986; STANGASSINGER, 1986; SANDNER, 1986; RAINER, 1986; QUITTERER, 1987). Die bisher vorliegenden Kenntnisse zum Kohlenhydratstoffwechsel der Zwergziege unterscheiden sich zudem in wichtigen qualitativen und quantitativen Aspekten nicht von den am Schaf bzw. Rind gewonnenen Ergebnissen (siehe STANGASSINGER, 1986).

a) Untersuchungen an Ratten in vitro (PLAS und NUNEZ, 1975) und an Hunden in vivo (RADZIUK, et al. 1970) zeigten, daß das zuletzt gebildete Glykogen auch bevorzugt als erstes wieder mobilisiert wird.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Versuchstiere, Haltung und Fütterung

Zur Durchführung der tracerkinetischen Untersuchungen standen 5 männliche Ziegenkastrierten der Rasse Afrikanische Zwergziege im Alter von rund 2-4 Jahren zur Verfügung. Das Körpergewicht, die metabolische Körpergröße und das extrazelluläre Glucoseverteilungsvolumen der einzelnen Zwergziegen ist Tabelle 1 zu entnehmen. Danach betrug das mittlere Körpergewicht der Versuchstiere für den Stoffwechselzustand "hungernd" $31,9 \pm 3,2$ kg, was einer metabolischen Körpergröße von $13,41 \pm 1,02$ kg^{0,75} und einem extrazellulären Glucoseverteilungsvolumen von $5,61 \pm 0,56$ l entsprach.

Während der versuchsfreien Zeit wurden alle Tiere in Einzelboxen mit Stroheinstreu im Stallgebäude des Instituts gehalten. Trinkwasser und Mineralsalzlecksteine standen uneingeschränkt zur Verfügung. Die Fütterung erfolgte zweimal täglich (7.30 und 16.00 Uhr) mit gutem bis sehr gutem Wiesenheu ad libitum.

Tabelle 1: Körpergewicht, metabolische Körpergröße und extrazelluläres Glucoseverteilungsvolumen^{a)} der Versuchstiere (66-72 h hungernd)

Tier	Körpergewicht "hungernd" (kg)	metabolische Körpergröße (kg ^{0,75})	extrazelluläres Glucoseverteilungs- volumen (l)
A	29,5	12,66	5,19
B	27,6	12,04	4,86
C	35,2	14,48	6,19
D	33,8	14,02	5,95
F	33,3	13,86	5,86

a) nach STANGASSINGER (1986) bei hungernden Zwergziegen
17,4 % kg LM

Um eine streßbedingte Beeinflußung der Messungen zu vermeiden wurden die Tiere rechtzeitig und wiederholt mit der Art der Unterbringung während der Versuchsperiode und mit allen für die Versuchsdurchführung notwendigen Manipulationen vertraut gemacht. Für die Versuche waren jeweils 2 Tiere gleichzeitig in erhöhten Stoffwechselkäfigen mit Gitterrostboden bei künstlicher Beleuchtung (7.00 - 19.00 Uhr) und Dauerbelüftung im Tierstall des Radioisotopenlabors untergebracht. Dort standen die Tiere nicht nur während der eigentlichen kinetischen Messungen, sondern auch in einer mehrtägigen Vor- sowie Nachperiode. Während der 3-tägigen Versuchsvorperiode sollten die Tiere an die Versuchsbedingungen gewöhnt und durch Futterentzug gleichzeitig in die gewünschte katabole Stoffwechsellaage gebracht werden. Die sich an die eigentliche Versuchsdurchführung anschließende "Dekontaminationsperiode" war durch die Dauer der Ausscheidung von radioaktivem Harn bestimmt und lag in einem Bereich von 3-5 Tagen. Der Erholungszeitraum der Tiere bis zur Wiederverwendung in einem weiteren Tierexperiment betrug mindestens 3 Wochen.

2.2 Versuchsdurchführung

Vorgesehen waren tracerkinetische Messungen des metabolischen Glucoseflusses vor, während und nach einer befristeten i.v. Glucosedauerbelastung sowie während einer sich daran anschließenden i.v. Glucagonbehandlung zur Glykogenmobilisierung bei Zwergziegen mit unterschiedlich kataboler Stoffwechselausgangslage. Der im folgenden als "hungernd" bezeichnete Stoffwechselzustand wurde dadurch erzielt, daß den Versuchstieren in der Versuchsvorperiode bei freiem Zugang zu Wasser und Salzlecksteinen das Futter entzogen wurde. Die kinetischen Messungen erfolgten dann in einem Zeitraum von 66 - 72 Stunden nach der letzten Nahrungsaufnahme. In einigen wenigen Versuchen, bei denen eine Verschärfung dieses katabolen Stoffwechselzustandes

bzw. eine verstärkte Depletion des Leberglykogens erreicht werden sollte, wurde bei den Versuchstieren gleichzeitig zum Futterentzug mit Phlorizin (Phlorizindihydrat; Fa. Carl Roth, Karlsruhe) eine Glucosurie durch partielle Hemmung des renalen Glucoserücktransports aus dem Primärharn induziert. Dazu erhielten die Tiere im Abstand von 12 Stunden 4 subkutane Injektionen mit jeweils einer Dosis von 15 mg/kg Körpergewicht (Injektionslösung: 1,0 g Phlorizin in 3 ml 1,2-Propandiol).

2.2.1 Versuchsanordnungen

In einer ersten Versuchsreihe (Vollversuche V_A , Kontrollversuche K_{A1} , Kontrollversuche K_{A2}) sollten vorwiegend Messungen zur "direkten" hepatischen Glykogenbildung aus exogen zugeführter Glucose mit Hilfe einer $[6-^3H]$ - und $[U-^{14}C]$ -Glucoseinfusion erfolgen. Die Anordnung der einzelnen Tracer-, Glucose- und Glucagoninfusionen sowie die Frequenz der Probeentnahmen ist Abbildung 4 zu entnehmen. Die über die ganze Versuchsdauer sich erstreckende 3H -Glucoseinfusion sollte vergleichende Messungen des Glucoseumsatzes in allen 4 Versuchsabschnitten (Kontrollperiode, 0-140 min; Glucosebelastung zur Auffüllung des Leberglykogens, 140-280 min; Erholungsphase zur Normalisierung des Glucoseumsatzes, 280-480 min; stufenweise gesteigerte Glucagoninfusion zur Mobilisierung des Leberglykogens, 480-600 min) ermöglichen. Die Dauerinfusion von ^{14}C -Glucose zusammen mit einer hochdosierten i.v. Glucosebelastung diente zur Markierung des neugebildeten Leberglykogens. Die Mobilisierung dieses vorwiegend neu gebildeten und ^{14}C -markierten (bei direktem Glucoseeinbau auch 3H -markierten) Glykogens sollte nach einer Erholungsphase, in der eine Normalisierung des metabolischen Glucoseflusses stattfinden konnte, mit Hilfe einer stufenweise gesteigerten Glucagondauerinfusion erfolgen. Die beiden Kontrollversuche K_{A1} (fehlende Glucosebelastung) bzw. K_{A2}

(fehlende Glucagonbehandlung) ermöglichten eine Darstellung der Auswirkungen der Glucagonbelastung auf die von exogener Glucosezufuhr unbeeinflusste Glucosekinetik bzw. eine Darstellung der ungestörten Normalisierung der durch die Glucosebelastung veränderten Glucosekinetik.

In einer zweiten Versuchsreihe B sollte die "indirekte" Leberglykogensynthese aus Glucosemetaboliten und zwar ebenfalls nach einer exogenen Glucosebelastung an 4 Zwergziegen mit depletierten Leberglykogenspeichern (Futterentzug bzw. Glucosurie) untersucht werden. Dabei wurde statt $[U-^{14}C]$ -Glucose eine Infusion von $^{14}CO_2$ in Form von $NaH^{14}CO_3$ vorgenommen, um so mit Hilfe einer ^{14}C -Markierung des gluconeogenetischen Kohlenstoffflusses über Oxalacetat einen quantitativen Einblick in die "indirekte" Glykogensynthese zu erhalten. Markiertes CO_2 , das sich mit Pyruvat zu Oxalacetat verbindet, jedoch während der PEP-Carboxykinasereaktion wieder freigesetzt werden kann, eignet sich nach RADZUIK (1981) für Messungen der Gluconeogeneserate besser als Glucosevorstufen (u.a. Lactat), da CO_2 keinen Nettobeitrag an C-Atomen für die Glucosebildung stellt und infolge seiner geringen Molekülgröße ein gutes Diffusionsvermögen aufweist.

Abgesehen von einer Verschärfung des katabolen Stoffwechselzustandes der Versuchstiere durch eine phlorizininduzierte Glucosurie (siehe 2.2) und einer um 60 min verlängerten i.v. Glucagondauerinfusion (480-660 min) wurde in der zweiten Versuchsreihe die für die Versuchsreihe A erstellte Versuchsanordnung beibehalten.

Gemäß dem in Abbildung 4 wiedergegebenen Versuchsablauf A bzw. B wurden die Experimente nach einem 3-tägigen Futterentzug jeweils bei 2 Tieren gleichzeitig durchgeführt (die durch die Blutentnahme bedingte zeitliche Verschiebung betrug in der Regel 5 Minuten) und dauerten 10 (Versuchsreihe A) bzw. 11 Stunden (Versuchsreihe B; 8⁰⁰-18⁰⁰ bzw. 19⁰⁰).

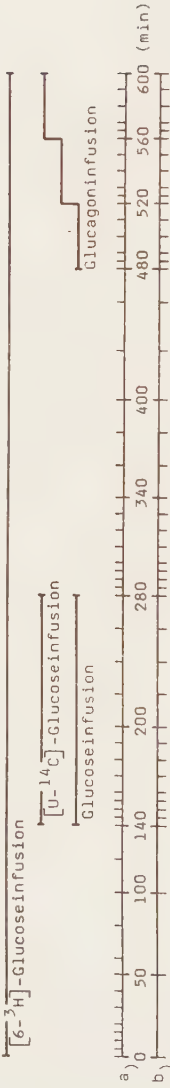
1. Versuchsreihe A:

V_A : $[6-^3H]$ -Glucoseinfusion von 0-600 min; $[U-^{14}C]$ -Glucoseinfusion von 140-280 min;

Glucoseinfusion von 140-280 min; Glucagoninfusion von 480-600 min

K_{A1} : keine Glucoseinfusion (ersatzweise phys. NaCl-Infusion); sonst wie V_A

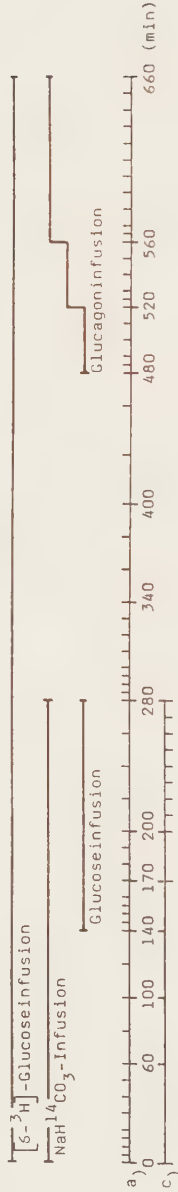
K_{A2} : keine Glucagoninfusion (ersatzweise phys. NaCl-Infusion); sonst wie V_A



2. Versuchsreihe B:

V_B : $[6-^3H]$ -Glucoseinfusion von 0-660 min; $NaH^{14}CO_3$ -Infusion von 0-280 min;

Glucoseinfusion von 140-280 min; Glucagoninfusion von 480-660 min



a) Plasmagewinnung mit Ammoniumheparinat-Monovetten (54 bzw. 60 pro Versuch)

b) Plasmagewinnung mit Kalium-Edta-Monovetten (45 pro Versuch)

c) Plasmagewinnung mit Natriumfluorid-vorbehandelten Ammoniumheparinat-Monovetten (10 pro Versuch)

Abbildung 4: Übersicht über Art und Dauer der i.v. Dauerinfusionen sowie über die Blutentnahmefrequenz

Die Applikation der am Vortag hergestellten Infusionslösungen erfolgte mit Einkanal- (Infosumat; Fa. Braun Melsungen) und Mehrkanal-Schlauchpumpen (Minipuls 2; Fa. Albimed, Düsseldorf bzw. PLG-Schlauchpumpe; Fa. Desaga, Heidelberg) (siehe Abbildung 5). Die Aufstallung der beiden Tiere in Stoffwechselkäfigen mit gegenseitigem Sichtkontakt sowie die Anordnung der Infusionspumpen und Infusionsleitungen während der Versuchsreihe B sind in Abbildung 5 wiedergegeben.

Im Anschluß an die Infusionsversuche wurden die Zwergziegen gefüttert und die Venenkatheter wieder entfernt. Um Verdauungsstörungen (vorwiegend Durchfälle) zu vermeiden, erhielten die Tiere am Anfang der Wiederaanfütterung nur Stroh.

2.2.2 Katheterimplantation

Um eine streßfreie Blutentnahme über einen längeren Zeitraum und eine einfache und sichere Applikation der Infusionslösungen zu ermöglichen, wurde den Tieren ca. 24 Stunden vor Beginn des eigentlichen Versuchsablaufes ein Venenkatheter (Surflo, i.v. Katheter, 1,35 x 51 mm; Fa. Terumo, Tokyo) in beide Venae jugulares externae unter möglichst sterilen Kautelen implantiert und mit Klebeband am Hals fixiert. Ein Verlängerungskatheter (Jugoseld, 225 x 1,4 x 2,4 mm; Fa. Vygon, Aachen) am Ende der beiden Venenkatheter sollte die Blutentnahme und den Ansatz der Infusionsschläuche erleichtern.

Vor bzw. zwischen den einzelnen Blutentnahmen wurden die Katheter samt Verlängerungsstücke mit einem isotonischen Antikoagulans (Na-Citrat-Lösung, 3,13 %; Fa. Fresenius, Bad Homburg) gefüllt. Dies hatte zur Folge, daß bei jeder Blutprobenentnahme die ersten 1-2 ml als Blutantikoagulansmischung verworfen werden mußten.

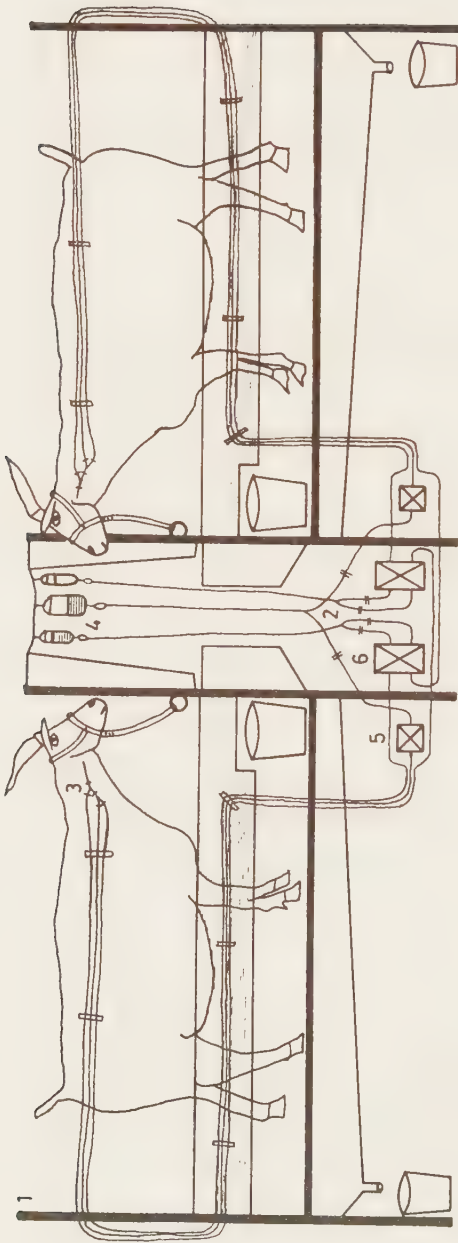


Abbildung 5: Übersicht zum Versuchsaufbau für die gleichzeitige i.v. Applikation von je 3 verschiedenen Infusionslösungen (Versuchsreihe B) bei 2 Zwergrazien

- 1 Stoffwechselkäfig mit Futterkrippe und einer Vorrichtung zum Sammeln von Harn und Kot
- 2 sterile Infusionsschläuche mit Klemmvorrichtungen und Klebebandstreifen zur Fixation
- 3 mehrfache Ansatzstücke am externen Teil des Verlängerungskatheters
- 4 sterilisierbare Infusionsflaschen mit Durchstechstopfen
- 5 Einkanalschlauchpumpe (^3H -Glucoseinfusion)
- 6 Mehrkanalschlauchpumpe (Glucoseinfusion, H^{14}CO_3 -Infusion)

2.2.3 Infusionslösungen

Alle in den vorliegenden Untersuchungen verwendeten und in Tabelle 2 wiedergegebenen Tracer wurden als sterile wässrige Lösungen nach Bedarf, d.h. in mittelgroßen handelsüblichen Mengen, (z.B. 37 MBq = 1 mCi in 1 ml) von der Fa. Amersham-Buchler (Braunschweig) bezogen (= Stammlösung) und bis zum endgültigen Verbrauch entsprechend den Herstelleranweisungen gelagert. Die Zubereitung der Infusionslösungen erfolgte regelmäßig am Versuchsvortag. Ausgehend von den Firmenangaben zur Isotopenkonzentration in den Stammlösungen wurde ein für 2 Tiere dosisäquivalentes Volumen entnommen und anschließend in eine Infusionsflasche überführt. Diese war bereits vorher entweder mit einem bestimmten Volumen einer sterilen physiologischen bzw. bei $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ auf pH 8 alkalisierten Kochsalzlösung (Fa. Fresenius, Bad Homburg) (z.B. für die $[\text{6-}^3\text{H}]$ -Glucose-, bzw. $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ -Infusion) oder einer Glucoselösung (für die $[\text{U-}^{14}\text{C}]$ -Glucoseinfusion) gefüllt worden. Nach der Entnahme eines Aliquots (2 - 5 ml) zur Bestimmung des tatsächlichen tracerspezifischen Radioaktivitätsgehaltes wurden die Infusionslösungen bis zum Versuchsbeginn im Kühlschrank ($+2^\circ\text{C}$) gelagert.

Abgesehen von den Kontrollversuchen K_{A1} mußte für alle Experimente auch eine Glucoseinfusionslösung bestimmter Konzentration hergestellt werden. Dazu wurde ein bestimmtes Volumen einer 40 %-igen sterilen Glucoseinfusionslösung (Glucosemonohydrat, Salvia; Fa. Boehringer, Mannheim) mit Aqua pro injectione (Ampuwa; Fa. Fresenius, Bad Homburg) bis zur gewünschten Konzentration (z.B. 195 ml Glucoselösung ad 500 ml Aqua p.i. für jeweils 2 Tiere) verdünnt, dann in eine sterile Infusionsflasche überführt und nach Entnahme eines Aliquots (0,5 ml) bis zur Bestimmung des tatsächlichen Glucosegehaltes im Kühlschrank aufbewahrt.

Tabelle 2: Spezifisch ^{14}C - bzw. ^3H -markierte Tracer^{a)}: Angaben zur Position des Isotops im Molekül, zur spezifischen Radioaktivität (SA) und zur Radioaktivitätskonzentration (C) der Stammlösung sowie zu der in den Versuchen eingesetzten Dosierung

Tracer	SA (GBq/mmol)	C (MBq/ml)	Dosierung ^{b)} (MBq/Tier)
D-[U- ^{14}C]-Glucose $\text{CH} \text{---} \text{O} \text{---} \text{CH}(\text{CHOH})_3 \text{CHOH}$	8,5	37	2,34 - 3,15
D-[6- ^3H]-Glucose $\text{CH} \text{---} \text{O} \text{---} \text{CH}(\text{CHOH})_2 \text{CTOH CHOH}$	740-1500	37	0,6 - 1,15
Natrium- ^{14}C -Bikarbonat Na HCO_3	1,85-2,2	37	0,54 - 2,35

a) Laut Hersteller werden Tritiumverbindungen als spezifisch markiert angesehen, wenn sich mehr als 95 % der gesamten Aktivität in der angegebenen Position befindet.

b) Dosisbereich für alle ausgewerteten Versuche

Bei allen Versuchen mit abschließender Glucagoninfusion (V_A , K_{A1} , V_B) kam kristallines Glucagonhydrochlorid (Fa. Lilly, Giessen) in einer dreistufigen Dosierung von 12, 24 bzw. $36 \text{ ng} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ zur Anwendung. Die Herstellung der Glucagoninfusionslösung erfolgte wie folgt: 1000 μg lyophilisiertes Glucagon, gelöst in einem Glycerol-Phenol-Wassergemisch, wurden mit steriler physiologischer Kochsalzlösung (Fa. Fresenius, Bad Homburg) auf ein Volumen von 500 ml aufgefüllt (= 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Glucagon). Unter Berücksichtigung der oben angegebenen Glucagonbelastung der Versuchstiere und einer Volumeninfusionsrate von 0,5, 1 bzw. 1,5 ml/min für jeweils 40 Minuten (in der Versuchsreihe B wurde der Glucagoninfusionsabschnitt mit einer Infusionsrate von 1,5 ml/min um 60 Minuten auf insgesamt 100 Minuten verlängert) wurden pro kg mittleres Körpergewicht 3,6 ml (bzw. 6 ml in der Versuchsreihe B) dieser Glucagonlösung entnommen und wiederum mit steriler physiologischer Kochsalzlösung auf das benötigte Infusionsvolumen von 300 ml aufgefüllt. Bei den Versuchen ohne Glucagoninfusion (K_{A2}) wurde ein adäquates Volumen einer sterilen physiologischen Kochsalzlösung verabreicht.

2.2.4 Probengewinnung

Die Entnahme von Blutproben über den dafür vorgesehenen Venenkatheter erfolgte mit Hilfe von unterschiedlichen Sicherheitsmonovetten (Fa. Sarstedt, Nümbrecht). So wurde ein Blutvolumen von 6 ml zur Bestimmung der Plasma-, ^{14}C - und ^3H -Glucose in Sicherheitsmonovetten mit Ammoniumheparinat als Gerinnungshemmer und einem trennschichtbildenden Granulat entnommen. Ebenfalls Ammoniumheparinat-Monovetten, jedoch zusätzlich mit Natriumfluorid als Glykolysehemmer versehen (siehe 2.3.4), dienten in der Versuchsreihe B der Blutgewinnung (5 ml Vollblut) zur $^{14}\text{CO}_2$ -Bestimmung. Die Probenentnahme (2 ml) zur Insulinbestimmung erfolgte dagegen mit Kalium-Edta-haltigen Monovetten.

Beginn und Dauer der Sammelperiode richteten sich nach der jeweiligen Versuchsanordnung und sind zusammen mit der Entnahmefrequenz in Abbildung 4 wiedergegeben. Traten im Experiment zeitliche Abweichungen von diesen Zielvorgaben auf, so wurden sie exakt festgehalten.

Jede Blutprobe wurde sofort nach der Entnahme im Eisbad (0°C) gekühlt und anschließend möglichst rasch zur Plasmagewinnung zentrifugiert (10 min bei 3000 g). Während die analytische Weiterverarbeitung des für die $^{14}\text{CO}_2$ -Bestimmung vorgesehenen Vollbluts sofort erfolgte, wurden alle anderen Blutproben nach dem Zentrifugieren entsprechend Anzahl und Art der nachfolgenden Messungen in 1,5 ml Microtubes (Treff AG, Degersheim, Schweiz) proportioniert und anschließend bei -18°C gelagert.

2.3 Analytische, präparative und radiometrische Methoden

2.3.1 Enzymatische Bestimmung von Glucose

Die enzymatische Bestimmung des Glucosegehalts konnte in den säulenchromatographischen Eluat und den Glucoseinfusaten direkt, in den Plasmaproben dagegen erst nach einem Enteiweißungsschritt (mit 0,3 M HClO_4 ; Verdünnung 1:10) vorgenommen werden. Sie erfolgte mit einer Biochemica Testkombination der Fa. Boehringer, Mannheim, nach der Glucoseoxidase-Peroxidase (GOD-Perid)-Methode entsprechend den beiliegenden Arbeitsvorschriften.

Die Richtigkeit und Präzision dieser Methode, ermittelt anhand von 3 verschiedenen Standardkonzentrationen (1,57 mmol/l, 3,13 mmol/l und 12,50 mmol/l), lag im Mittel bei 99,13 und 1,61 %.

2.3.2 Radioimmunologische Bestimmung von Insulin

Zur Bestimmung des Insulins im Plasma wurde ein spezifischer Radioimmuntest verwendet (JNSJC-5, Insulin Radioimmunoassay Kit; Diagnostik CIS GmbH, Dreieich). Das Prinzip dieses Radioimmunassays besteht in der Konkurrenz des endogenen Insulins mit radioaktiv markiertem Insulin (^{125}J) um eine begrenzte Anzahl gegen Insulin gerichteter Antikörper. Dabei verhält sich nach einer Inkubation die Menge an antikörpergebundenem, markiertem Insulin umgekehrt proportional zu der Menge des "Probeninsulins". Das antikörpergebundene, markierte Hormon wird durch Zugabe eines zweiten Antikörpers ausgefällt und abzentrifugiert. In der vorliegenden Untersuchung wurde die Aktivität des Präzipitats nach Dekantieren des Überstandes in einem Gamma-Zähler gemessen (Auto-Gamma 500; Packard Instruments, Frankfurt; Zählzeit 1 min). Die untere bzw. obere Nachweisgrenze der Bestimmungen lag bei 2,5 bzw. 200 mU/l. Die Spezifität des Insulin-Antikörpers betrug 100 % mit 0,25 % bzw. weniger als 0,07 % Kreuzreaktion für Glucagon bzw. C-Peptid.

2.3.3 Präparation der Glucose zur Bestimmung der spezifischen Aktivität

Der von SCHMIDT et al. (1975) beschriebene säulenchromatographische Anionenaustausch stellte die Grundlage des Verfahrens zur spezifischen, präparativen Abtrennung von Glucose aus Plasmaproben dar. Diese Methode wurde aufgrund des geringeren Zeitaufwandes und der Möglichkeit einer weiteren enzymatischen Behandlung der isolierten Glucose dem ebenfalls häufig verwendeten Pentaacetat-Fällungsverfahren nach JONES (1965) vorgezogen.

Alle organischen Säuren mit niedrigem pK (insbesondere Lactat, Pyruvat, aber auch Bikarbonat) werden beim Schmidt'schen Verfahren von Glucose abgetrennt, indem sie vom Harz der Chromatographiesäule im Austausch gegen ein bereits vorhandenes Anion (z.B. Cl^-) reversibel gebunden werden.

Die chromatographische Ausrüstung, die Enteiweißung der Proben sowie die Eluatgewinnung erfolgten in der vorliegenden Untersuchung gemäß den Angaben von SCHMIDT et al. (1975) bzw. von STANGASSINGER (1986). Die quantitative Entfernung des stoffwechselbedingten 3H_2O aus den Eluaten erfolgte mittels Lyophilisierung (Lyophilisator Beta; Fa. Christ, Osterode). Der Rückstand wurde in 0,5 ml Aqua bidest. aufgenommen und nach Entnahme eines Aliquots (0,5 ml) für die Glucosekonzentrationsbestimmung der Radioaktivitätsmessung zugeführt.

2.3.4 Präparation der Blutproben zur Bestimmung der $^{14}CO_2$ -Aktivität im Vollblut

Grundlage der in der vorliegenden Untersuchung verwendeten Methode zur Bestimmung der spezifischen Radioaktivität von $^{14}CO_2$ waren die Arbeiten von HINKS et al. (1966) und von ROSE (1976). Im einzelnen wurde wie folgt vorgegangen:

Die Entnahme der zur $^{14}CO_2$ -Bestimmung vorgesehenen Blutproben erfolgte möglichst zügig und luftfrei mit Hilfe von Heparinat-Monovetten, die zusätzlich mit Natriumfluorid als Glykolysehemmer versehen wurden. Nach kurzfristiger Kühlung der Proben im Eisbad wurde 1 ml Vollblut in ein N_2 -begastetes Reaktionsgefäß überführt, zur CO_2 -Freisetzung mit 2 ml 1N Perchlorsäure versetzt und 3 Stunden bei $20^\circ C$ geschüttelt. Ein im Reaktionsgefäß aufgehängtes Szintillationszählfläschchen, das 0,5 ml einer thymolphthaleinhaltigen 0,3N $Ba(OH)_2$ -Lösung enthielt, diente zum Auffangen des freigesetzten CO_2 .

Unmittelbar nach Entnahme dieses CO_2 -Auffanggefäßes und nach dem Zusatz von 1 ml Aqua bidest. wurde mit 0,6 N Salzsäure bis zum Farbumschlag (von blau nach farblos) mittels einer Ströhlein-Mikropipette unter N_2 -Begasung titriert und über die verbrauchte Säuremenge der gesamte CO_2 -Gehalt der Probe bestimmt. Nach Zusatz von 1 ml eines Edta (100 mM)-haltigen 20 mM TRIS-Puffers (pH 9,0), um das BaCO_3 in Lösung zu bringen, wurde das Zählfläschchen mit 18 ml Szintillator (Instant Gel; Fa. Packard, Frankfurt) versetzt und nach einer 12-stündigen Lagerung im Dunkeln (zum Abklingen der Chemolumineszenz) zur Flüssigszintillationsmessung in einen β -Zähler (Modell Tri-Carb 453; Fa. Packard, Frankfurt) verbracht (jede Probe wurde 2 x 5 min bei 18°C gemessen).

Die Wiederfindung und Präzision dieser Methode zur Bestimmung der spezifischen Aktivität (SA) von $^{14}\text{CO}_2$ lag für CO_2 (in einem Konzentrationsbereich von 4,2 - 63,2 μmol) bei 102,2 und 5,8 % und für ^{14}C (10700 DPM) bei 102,3 und 3,2 %.

2.3.5 Flüssigszintillationsmessung

Zur Radioaktivitätsmessung wurden ein Teil der Säuleneluate (0,45 ml) sowie der Plasmaproben (0,2 ml) zur Bestimmung der ^{14}C - und ^3H -Gesamtaktivität mit 10 ml Quickszint 212 (Fa. Zinser Analytic GmbH, Frankfurt), die $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ -haltigen Proben (s. 2.3.4) dagegen mit 18 ml Instant Gel (Fa. Packard, Frankfurt) als Szintillator gemischt und maximal 10 Minuten lang (bzw. bis zum Erreichen einer Impulssumme von 100 000 IMP^{a}) gezählt. Mit Hilfe einer Zwei-

a) IMP = Impulse pro min

kanaleinstellung am β -Zähler (Modell Tri-Carb 4530; Fa. Packard, Frankfurt) konnten in einer Probe simultan die ^3H - bzw. ^{14}C -Impulse aufgrund der unterschiedlich emittierten Energie erfaßt werden ($^{14}\text{C} = 0,15 \text{ MeV}$ und $^3\text{H} = 0,018 \text{ MeV}$). Die Überstrahlung^{a)} von ^{14}C auf den ^3H -Meßkanal und die Zählkreisbeute beider Isotope wurde für jede Probe individuell ermittelt und zwar mittels vorher erstellter, und im Zähler gespeicherter Quenchkurven, die bei der Berechnung der DPM^{b)}-Werte automatische Berücksichtigung fanden. Da die Glucosewiederfindung im Säuleneluat nur 65-75 % betrug (zur Bestimmung der SA reichte diese unvollständige Elution aus!), wurde anhand der im Plasma gemessenen Glucosekonzentration ein Korrekturfaktor ermittelt, mit dessen Hilfe die im Eluat erhaltenen Radioaktivitätswerte von ^3H - und ^{14}C -Glucose auf 100 % umgerechnet werden konnten.

Zur Berechnung der spezifischen Aktivität SA (Radioaktivität pro Stoffmenge) eines jeden Tracers wurde die dem Zählvolumen zugehörige Stoffkonzentration (Glucose, CO_2) mitberücksichtigt. Sie erfolgte nach der Formel:

$$\text{SA}(\text{Bq}/\mu\text{mol}) = \frac{\text{Radioaktivität pro } \mu\text{l Probenaufbereitung (Bq)}}{\text{Stoffkonzentration pro } \mu\text{l } (\mu\text{mol})}$$

Um einen tracerdosisunabhängigen, direkten Vergleich der zeitabhängigen RA (t)- und SA (t)-Verlaufskurven zu ermöglichen, wurde die berechnete spezifische Radioaktivität SA und die Radioaktivität RA nicht absolut, sondern relativ zu der in einer Stunde applizierten Tracerdosis (in % $\text{D} \cdot \text{l}^{-1}$ bzw. in % $\text{D} \cdot \mu\text{mol}^{-1}$ oder mmol^{-1}) mit $\text{D} = 100$ angegeben.

a) Das höher energiehaltige Isotop (^{14}C) kann bei solchen Messungen nicht von der Analyse des weniger energiehaltigen Isotops (^3H) ausgeschlossen werden.

b) DPM = Zerfälle ("decays") pro min (60 DPM = 1 Bq)

2.4 Statistische Methoden

Die Meß- und Rechenergebnisse wurden als Mittelwerte verschiedener Tiere bzw. zum Teil mehrerer Versuchswiederholungen mit Standardabweichung ($\bar{x} \pm s$) angegeben. Als Bezug für die Angabe von Stoffmengen, Infusionsraten und Umsatz- bzw. Produktionsraten diente die metabolische Körpergröße ($\text{kg}^{0,75}$). Die Berechnung des Variationskoeffizienten (VK in %), des 95 %igen Konfidenzbereiches sowie von linearen Regressionen und den dazugehörigen Korrelationskoeffizienten erfolgte nach SACHS (1984). Extrem hohe oder niedrige Werte innerhalb eines Meßbereiches wurden mit Hilfe des Tests nach DIXON überprüft und als Ausreißer verworfen, wenn sich eine Zugehörigkeit zu einer anderen Grundgesamtheit mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ ergeben hatte (SACHS, 1984).

3 ERGEBNISSE

3.1 Versuchsreihe A: Zum Glucosestoffwechselverhalten von hungernden Zwergziegen vor, während und nach experimentell induzierten, metabolischen "Ungleichgewichtsbedingungen" (Glucose- bzw. Glucagonbelastung)

In der nachfolgenden Darstellung der Behandlungsergebnisse dienen die an unbehandelten Tieren im Rahmen von Kontrollversuchen (K_{A1} bzw. K_{A2}) ermittelten Kontrollwerte als Bezugsgrößen und werden den Ergebnissen der Vollversuche (V_A) jeweils vergleichend gegenübergestellt. So wurde im Kontrollversuch K_{A1} auf die exogene Glucosebelastung und im Kontrollversuch K_{A2} auf die Glucagonbehandlung verzichtet. Da in diesen Kontrollversuchen immer nur in einem bestimmten Versuchsabschnitt eine Änderung der Versuchsanordnung erfolgte, die anderen Versuchsphasen aber bezüglich

der Versuchsbedingungen analog zu den Vollversuchen verliefen, erscheint es gerechtfertigt, bei einer phasenweisen Auswertung (z.B. Kontrollperiode, Glucosebelastungsperiode, Erholungsphase, Glucagonbehandlungsphase) einzelne Ergebnisse der Voll- und Kontrollversuche dort, wo möglich, zusammenzufassen.

3.1.1 Konzentrationsverlauf von Glucose und Insulin im Blutplasma

3.1.1.1 Auswirkung einer exogenen Glucosebelastung

Eine schematische Darstellung des zu erwartenden Konzentrationsverlaufes von Plasmaglucose während des 4-phasigen Versuchsablaufes in den Voll- bzw. Kontrollversuchen zeigt Abbildung 6. Tatsächlich gemessene und graphische Angaben zur tatsächlichen mittleren Glucose- und Insulinkonzentration im Plasma von hungernden Zwergziegen vor, während und nach einer exogenen Glucosebelastung, die im Mittel $6,37 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-0,75}$ betrug, sind Tabelle 15 sowie Abbildung 7 zu entnehmen. Danach läßt sich die der Glucosebelastung vorgeschaltete Kontrollperiode wie folgt charakterisieren:

Die Glucosekonzentration verhält sich im Beobachtungszeitraum von 140 Minuten (Kontrollperiode) bei allen Versuchstieren weitgehend konstant. Sie liegt im Mittel bei $3,40 (V_A + K_{A2})$ bzw. $3,43 (K_{A1}) \text{ mmol/l}$ mit einem Variationskoeffizienten von 0,9 bzw. 1,2 %.

Der anhand von 4 Messungen in der Kontrollperiode bestimmte mittlere Insulinbasalspiegel liegt bei $5,2 \text{ mU/l}$ und weist einen Variationskoeffizienten von 5,7 % auf. Daraus ergibt sich für den Versuchsabschnitt "Kontrollperiode" ein mittlerer Insulin/Glucose-Quotient von 1,53.

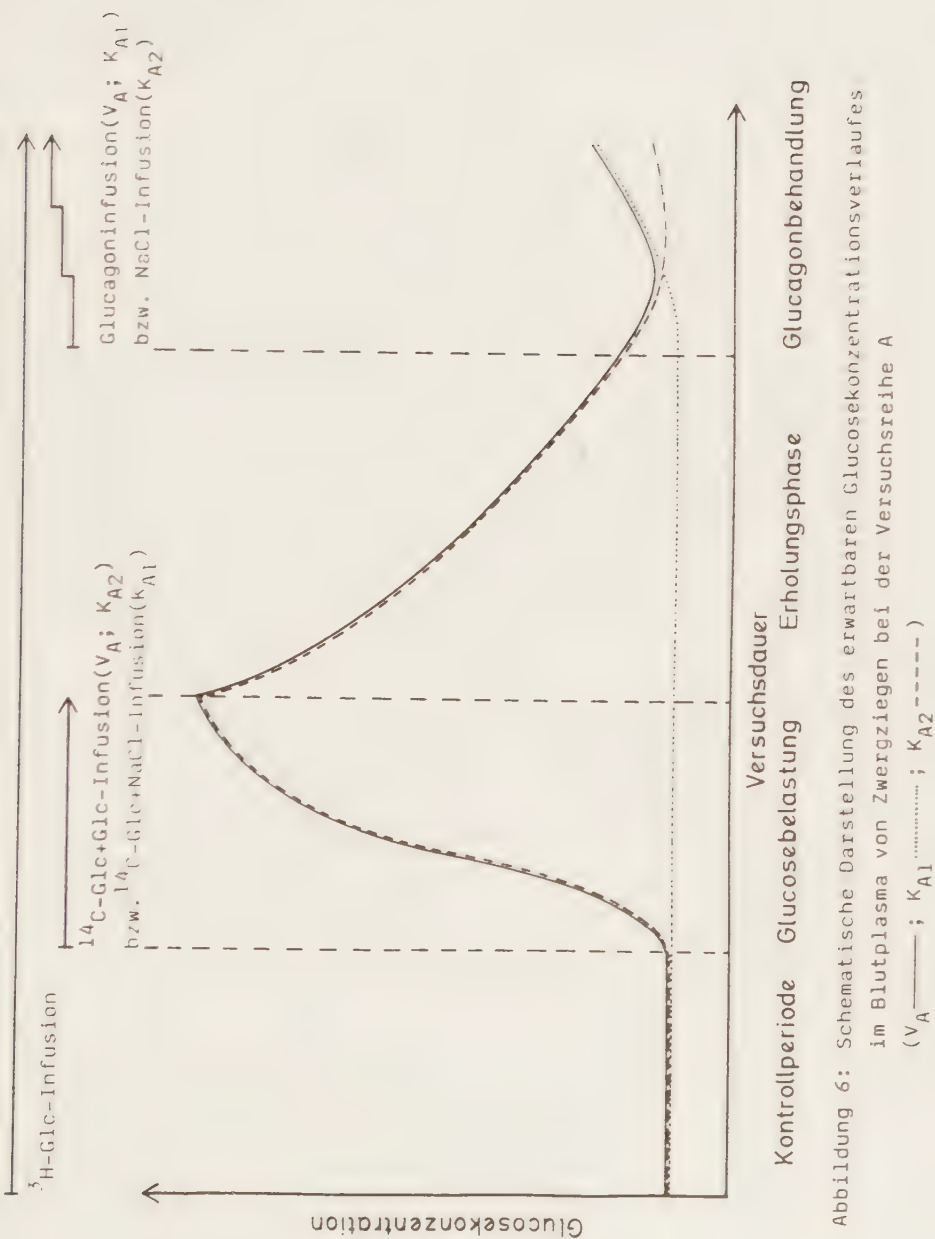


Abbildung 6: Schematische Darstellung des erwartbaren Glucosekonzentrationsverlaufes im Blutplasma von Zwergziegen bei der Versuchsreihe A

Das Verhalten von Glucose und Insulin während einer 140-minütigen exogenen Glucosedauerbelastung (siehe auch Tabelle A1 und Abbildung 7) läßt sich wie folgt zusammenfassen:

Der Plasmaspiegel steigt in den ersten 40 Minuten der i.v. Glucoseinfusion steil an und erfährt in diesem Zeitraum eine mittlere Konzentrationszunahme um 8,37 mmol/l (+146 %; n=10). Während der folgenden 40 Minuten verlangsamt sich trotz gleichbleibender Infusionsgeschwindigkeit (90 ml/h) der mittlere Glucoseanstieg deutlich. Die Konzentrationszunahme beträgt nur noch 4,70 mmol/l (+138 % des Kontrollwertes). In der letzten Infusionsstunde (220-280 min) reduziert sich die Konzentrationszunahme sogar auf 4,22 mmol/l (+124 % des Kontrollwertes). Diese asymptotische Näherung an ein neues, deutlich höheres Glucosekonzentrationsplateau deutet darauf hin, daß sich der Glucoseumsatz allmählich der gesteigerten Glucoseverfügbarkeit anpaßt. Der im Meßzeitraum bei 280 min erreichte Maximalwert von $20,69 \pm 1,86$ mmol/l entspricht einer Niveauanhebung auf mehr als das 6-fache des Ausgangswertes.

Die mittlere Insulinkonzentration reagiert während der ersten 20 Minuten der Glucosedauerinfusion mit einem steilen Anstieg auf rund 35 mU/l (+481 %), flacht dann aber in den folgenden 60 Minuten (160-220 min) asymptotisch ab (+398 % des Kontrollwertes). Während der letzten Glucoseinfusionsstunde steigt er jedoch wieder steil an und verzeichnet so in diesem Zeitraum eine Zunahme von + 971 % des Kontrollwertes. Überraschend ist, daß das eigentliche Insulinmaximum mit 110,3 mU/l erst 15 Minuten nach Beendigung der Glucosebelastung erreicht wird.

Die vorübergehende Abflachung zwischen 160 und 220 min und der nachfolgende steile Anstieg der Insulinkonzentration lassen eine Reprimierung der maximalen Insulinantwort auf Glucose unter Hungerbedingungen vermuten, die erst nach einer gewissen Adaptationsphase durch den persistent hohen

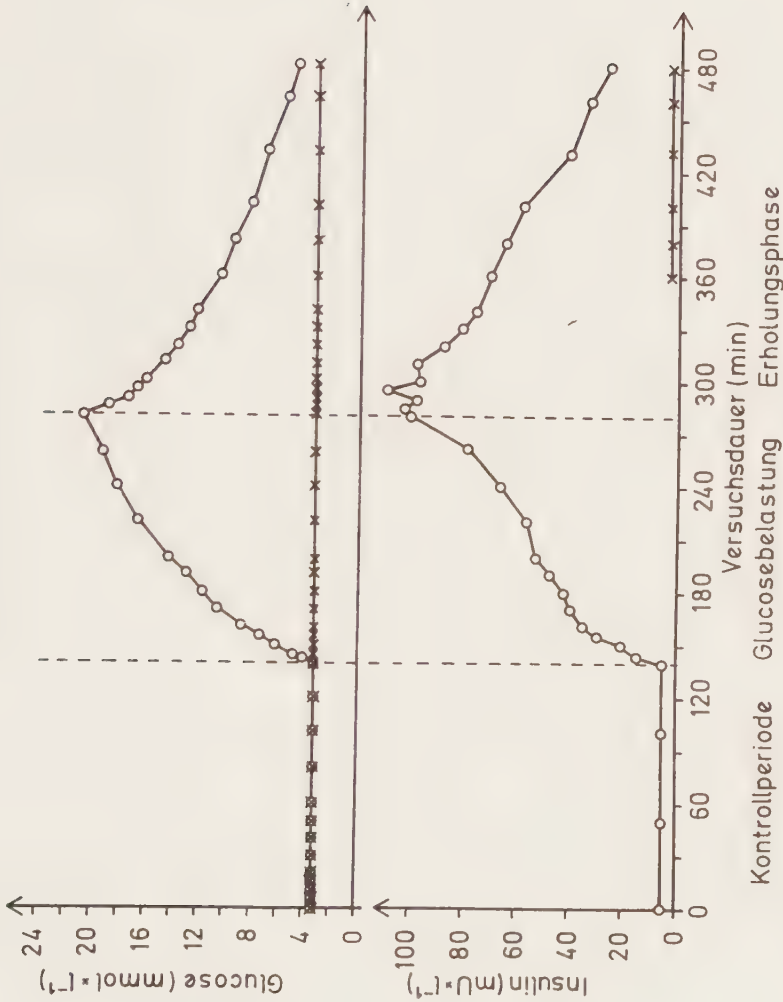


Abbildung 7: Mittlerer Konzentrationsverlauf von Glucose und Insulin im Blutplasma hungernder Zwerg-
 ziegen vor, während und nach einer exogenen Glucosebelastung (V_A, K_{A2} ○—○; n=10) bzw.
 bei fehlender exogener Glucosebelastung (K_{A1} ×—×; n=4)

Glucosespiegel wieder aufgehoben werden kann. Dies spiegelt sich auch im Insulin/Glucose-Quotienten wieder, der unter Glucosebelastung von 1,53 (Kontrollperiode) zunächst (bei 160 min) auf 4,07 ansteigt, dann jedoch auf 3,41 abfällt (bei 220 min) und schließlich 4,90 (bei 280 min) erreicht.

In der sich an die Glucosedauerinfusion anschließenden Erholungsphase (siehe Abbildung 7 und 8) ließ sich die Normalisierung des überhöhten Glucose- und Insulinspiegels anhand der Halbwertszeit ($T_{1/2}$ in min) und der Eliminationskonstanten k der Konzentrationsabnahme in diesem Zeitraum charakterisieren. Die Berechnung dieser Parameter erfolgte nach den z.B. von GLADTKE & von HATTINGBERG (1977) wiedergegebenen Formeln: $k = (\ln y_2 - \ln y_1) / t_2 - t_1$ und $T_{1/2} = \ln 2 / k$. Danach erfolgt die Glucoseabnahme im Plasma für den Zeitraum zwischen der 20. und 200. Minute nach Infusionsende (280-480 min) mit einer Halbwertszeit von 105 Minuten (fraktionelle Elimination: $k \cdot 100 = 66 \% \text{ min}^{-1}$). Infolge des später erreichten Maximalwertes zeigt die Insulinkonzentrationskurve bei halblogarithmischer Darstellung (siehe Abbildung 8) erst ab der 40. Minute nach Glucosebelastung einen annähernd linearen Verlauf. Die daraus berechnete $T_{1/2}$ liegt bei 95,6 min (fraktionelle Elimination: $k \cdot 100 = 7,25 \%$).

In welcher Weise bei Zwergziegen die Glucose- und Insulinkonzentration im Plasma während und nach einer exogenen Glucosebelastung miteinander korreliert sind, zeigen die in Abbildung 9 aus Einzelwertangaben ($n=120$ bzw. 139) von jeweils 10 Versuchen errechneten linearen Regressionen. Interessant ist, daß sich die beiden ermittelten Regressionsgeraden in der Lage des Ordinatenschnittpunktes und in ihrer Steilheit deutlich unterscheiden.

Am Ende der 200-minütigen Erholungsphase hat weder die Glucose- noch die Insulinkonzentration die Werte der Stoffwechselausgangslage (Kontrollperiode) erreicht (siehe

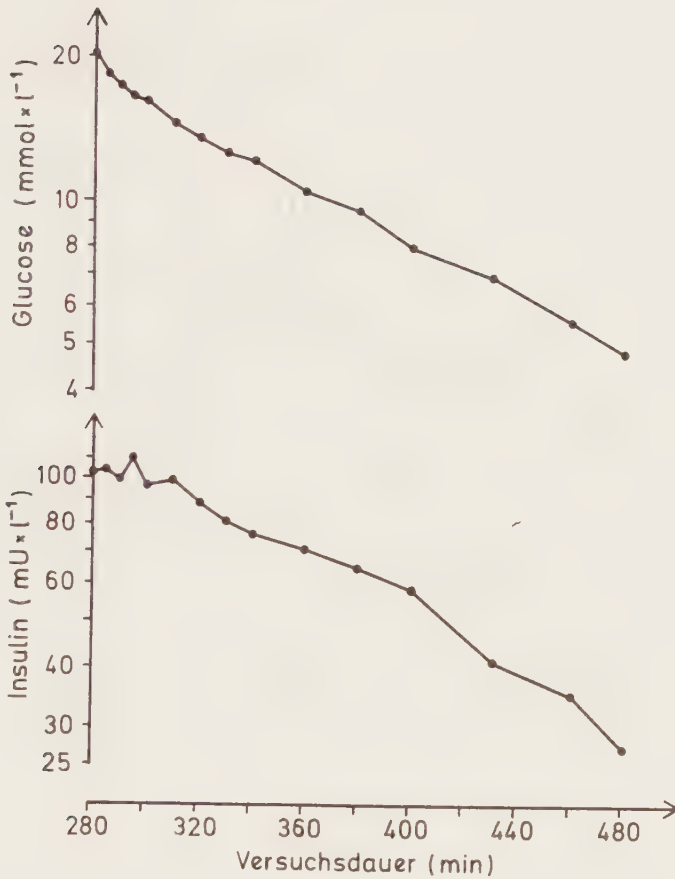


Abbildung 8:

Halblogarithmische Darstellung des mittleren Glucose- und Insulinverlaufes im Blutplasma nach exogener Glucosebelastung (Erholungsphase) bei den Versuchen V_A und K_{A2} ($n=10$)

Berechneter Verlauf:

$$\text{Glucose}(t) = 2,150 \cdot e^{-4,355 \cdot t} + 18,090 \cdot e^{-0,273 \cdot t} + 0,425 \cdot e^{-0,218 \cdot t}$$

$$\overline{SQ} = 0,2434$$

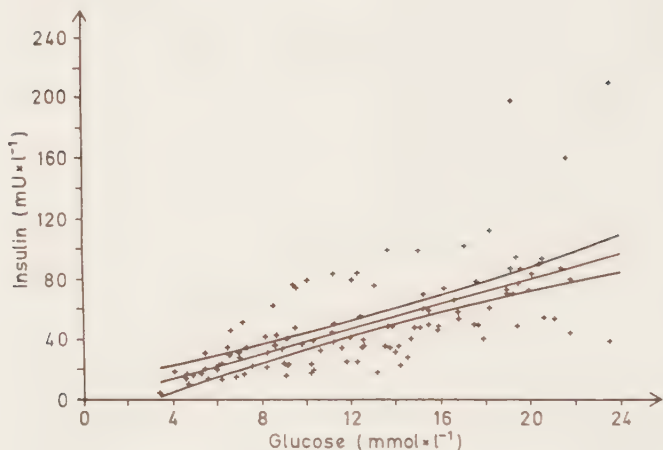
$$r = 0,99995$$

$$\text{Insulin}(t) = 12217,532 \cdot e^{-29,999 \cdot t} + 113,263 \cdot e^{-0,373 \cdot t} + 0,008 \cdot e^{-0,235 \cdot t}$$

$$\overline{SQ} = 125,27428$$

$$r = 0,99081$$

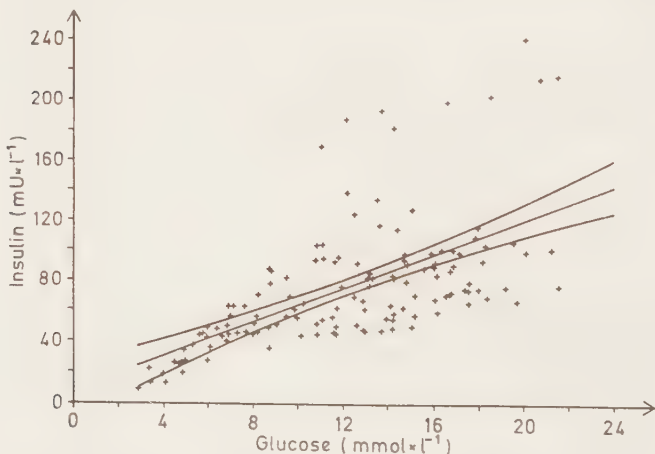
Abbildung 9:



Korrelation zwischen der Glucose- und Insulinkonzentration
im Blutplasma von Zwergziegen während der Glucosebelastung
in den Versuchen V_A und K_{A2}
(Einzelwertangaben aus 10 Versuchen)

Korrelation: $r = 0,641$ $n = 120$ $p < 0,05$

Regression(zuzgl. 95%-Konfidenzbereich): $y = 2,992 + 4,101x$



Korrelation zwischen der Glucose- und Insulinkonzentration
im Blutplasma von Zwergziegen während der Erholungsphase
in den Versuchen V_A und K_{A2}
(Einzelwertangaben aus 10 Versuchen)

Korrelation: $r = 0,613$ $n = 139$ $p < 0,05$

Regression(zuzgl. 95%-Konfidenzbereich): $y = 8,259 + 5,517x$

Tabelle A1 und Abbildung 10). Der Plasmaglucosespiegel liegt mit $4,90 \pm 1,31$ mmol/l noch deutlich (+4,5%) über dem Mittel sowohl der Werte der Kontrollperiode als auch der Werte der NaCl-Behandlungsperiode (K_{A2}). Die Insulinkonzentration weist sogar noch 24,3 mU/l (+367 %) Differenz zu den Kontrollwerten auf. Daß die glucosebehandelten Tiere nach der Erholungsphase immer noch weit von der katabolen Stoffwechselausgangslage entfernt sind, zeigt auch der Insulin/Glucose-Quotient, der im Verlauf der Erholungsphase zwar abnimmt, aber zum Zeitpunkt 480 min immer noch bei einem Wert von 5,6 liegt.

Bei Betrachtung der jeweiligen Varianzkoeffizienten der Glucosewerte während und nach exogener Glucosebelastung fällt die relativ geringe Variabilität in der Anstiegsphase (durchschnittlicher Vk 9,7 %), die ansteigende Variabilität in der ersten Stunde der Erholungsphase (durchschnittlicher Vk 12,6 %) und die besonders große Variabilität in der zweiten Hälfte der Erholungsphase (durchschnittlicher Vk 21,2 %) auf. Offensichtlich machen sich individuelle Unterschiede im Glucosestoffwechsel besonders bei der "Feinregulierung" (= Anpassung an das physiologische Niveau) des Glucosespiegels bemerkbar. Die Variationsbreite der Insulinwerte erweist sich mit einem mittleren Vk von 37 % (Glucosebelastungsphase) bzw. 46 % (erste Stunde der Glucoseelimination) 3-4 mal größer, zeigt jedoch am Ende der Erholungsphase wieder einen leichten Abfall auf 34,8 %. Die vergleichsweise große individuelle Variabilität der insulinantwort während und nach exogener Glucosezufuhr ist keine Besonderheit allein dieser Versuche, sondern konnte auch bei i.v. Glucosetoleranztests vielfach beobachtet werden.

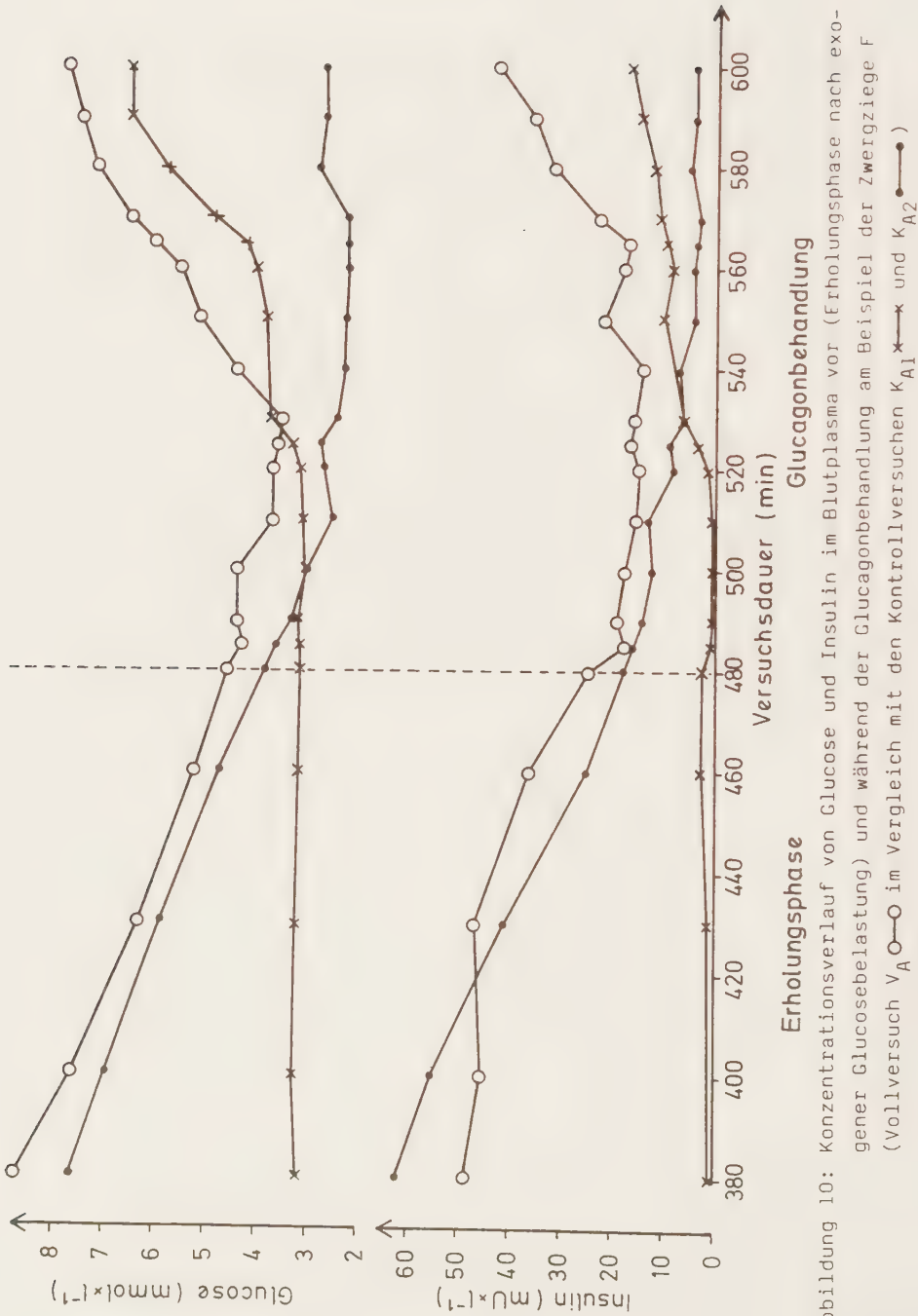


Abbildung 10: Konzentrationsverlauf von Glucose und Insulin im Blutplasma vor (Erholungsphase nach exogener Glucosebelastung) und während der Glucagonbehandlung am Beispiel der Zwergziege F (Vollversuch V_A ○—○ im Vergleich mit den Kontrollversuchen K_{A1} ×—× und K_{A2} ●—●)

3.1.1.2 Auswirkung einer Glucagonbehandlung

Um möglichst viel von dem während der Glucosebelastung gebildeten Glykogen wieder zu mobilisieren, wurde im Anschluß an die 200-minütige Erholungsphase eine dreistufige Glucagondauerinfusion mit einer Glucagonbelastung von 12,24 und 36 $\text{ng} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ über einen Zeitraum von je 40 Minuten gegeben. Am Beispiel der Zwergziege F wird in Abbildung 10 die Reaktion der Glucose- und Insulinkonzentration im Plasma während der Glucagonbehandlung, und zwar ausgehend von der Erholungsphase, dargestellt. Dem Kurvenverlauf im Vollversuch (V_A) sind die Ergebnisse der beiden an jeweils demselben Tier durchgeführten Kontrollversuche (K_{A1} ohne Glucosebelastung; K_{A2} ohne Glucagonbehandlung) vergleichend gegenübergestellt. Einzelne zeitabhängige Meßwerte von Glucose und Insulin in diesem Versuchsabschnitt 4 sind den Tabellen A2 a-c zu entnehmen.

Das hier am Beispiel des Tieres F exemplarisch wiedergegebene Verhaltensmuster der Glucose- und Insulinkonzentration während der Glucagonbehandlung gilt auch für die übrigen Versuchstiere. Auffallend sind jedoch große Unterschiede in der quantitativen Glucagonempfindlichkeit der beiden Parameter bei den einzelnen Zwergziegen (siehe Tabelle A1). Im einzelnen läßt sich das Verhalten der beiden Blutparameter Glucose und Insulin während der 2-stündigen Glucagonbehandlung, und zwar mit bzw. ohne vorausgegangener Glucosebelastung, wie folgt zusammenfassen:

Über die Erholungsphase hinaus zeigt die Glucoseverlaufskurve der Vollversuche einen fortgesetzten Konzentrationsabfall, auch noch während der ersten Stufe der Glucagonbehandlung ($12 \text{ ng} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$), so daß im Mittel $56 \pm 9 \text{ min}$ ($n=5$) nach Einsetzen der Glucagoninfusion mit $3,31 \pm 0,6 \text{ mmol/l}$ ein Glucosekonzentrationstiefpunkt erreicht wird. Der sich daran anschließende, offensichtlich glucagonbedingte Wiederanstieg der Plasmaglucose auf durchschnittlich $5,50 \pm$

1,32 mmol/l entspricht einer Zunahme um 66,5 %, weist aber eine erhebliche Varianz (Vk 61,82 %; n = 5) auf. Bei 3 Versuchen wurde die Glucagonbehandlung auf der Stufe der höchsten Infusionsrate ($36 \text{ ng} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$) um 60 Minuten verlängert. So konnte gezeigt werden, daß bei fortgesetzter konstanter Glucagonbelastung die Plasmaglukosekonzentration zwar nicht weiter ansteigt, aber auf einem erhöhten Plateauwert von $4,87 \pm 0,8 \text{ mmol/l}$ gehalten werden kann.

Dies läßt die Vermutung zu, daß - unter Annahme einer weitgehenden Gluconeogenesehemmung durch die vorausgegangene Glucoseinfusion - nach einer 2-stündigen Glucagonbehandlung erst ein Teil der in der Leber als Glykogen gespeicherten Glucose mobilisiert und wieder ins Blut abgegeben wurde. Dies bedeutet, daß bei den die Glucosemobilisierung erfassenden Berechnungen nur prozentuale und auf einen bestimmten Behandlungszeitraum bezogene Angaben aussagekräftig und untereinander vergleichbar sind.

Bei den Versuchen, in denen keine Glucosedauerinfusion verabreicht wurde (K_{A1}), setzt die hyperglykämische Glucagonwirkung deutlich früher, und zwar bereits nach $17,5 \pm 10$ Minuten (n = 4) ein und erreicht mit $5,75 \pm 0,86 \text{ mmol/l}$ (Vk 16,16 %) ein Niveau, das auch für die Vollversuche typisch ist.

Die Kontrollversuche ohne Glucagonbehandlung (K_{A2}) zeigen im Vergleich zu den Vollversuchen eine um durchschnittlich 36 Minuten länger andauernde Glukosekonzentrationsabnahme. Erst im Mittel nach 92 ± 29 Minuten zeigt der inzwischen weit unter den Kontrollwert der Stoffwechselausgangslage abgesunkene Plasmaglukosespiegel ($2,49 \pm 0,44 \text{ mmol/l}$; Vk 17,67 %) eine gegenläufige Normalisierungsreaktion und erreicht nach Ablauf des 2-stündigen Versuchsabschnittes zum Zeitpunkt 600 min mit $3,06 \pm 0,55 \text{ mmol/l}$ (Vk 17,97 %; n = 5) ein Niveau, das immer noch 10 % unter dem im ersten Versuchsabschnitt (0-140 min) gemessenen Kontrollwert von $3,40 \pm 0,03 \text{ mmol/l}$ (Vk 0,9 %; n = 10) liegt.

Abgesehen von der für jeden Hormonkonzentrationsverlauf typischen, großen individuellen Variabilität (hier: VK-Insulin für 480-600 min im Mittel bei rund 30 %) zeigt der Insulinkonzentrationsverlauf im vierten Versuchsabschnitt (480-600 min) ein dem Glucosekonzentrationsverlauf angepaßtes, wechselndes Verhaltensmuster von Abfall und Anstieg (siehe Abbildung 10 und Tabelle A2a). So erreicht bei den Vollversuchen (V_A) die Insulinkonzentrationskurve im Mittel nach 47 ± 13 Minuten (VK 27,7 %; $n = 5$; 9 Minuten früher als Glucose) ihren Tiefpunkt von $16,5 \pm 3,7$ mU/l (VK 22,7 %). Diese Konzentration ist jedoch immer noch 3-mal so hoch wie die mittlere Konzentration zur Zeit des Versuchsabschnittes 1 ($5,2 \pm 0,3$ mU/l; VK 5,7 %). Durch den sich daran anschließenden Konzentrationsanstieg wird zum Versuchsende eine Insulinkonzentration von $33,6 \pm 10,4$ mU/l (VK 30,1 %) erreicht. In den Versuchen ohne exogene Glucosebelastung (K_{A1}) wird dieser Insulianstieg während der Glucagonbehandlung in Anlehnung an das Verhalten der Glucosekonzentration früher, und zwar nach $33,7 \pm 7,5$ Minuten (VK 22,3 %; $n = 4$) sichtbar, bleibt aber mit $12,7 \pm 7,06$ mU/l (VK 55,5 %; $n = 4$) zum Zeitpunkt 600 min deutlich unter dem Niveau der Vollversuche.

Erfolgt keine Glucagonbehandlung (Kontrollversuch K_{A2}), so zieht sich der Insulinabfall bis kurz (im Mittel 18 Minuten) vor Ende des vierten Versuchsabschnittes hin, wobei mit 5,5 mU/l (VK 67,64; $n = 5$) wieder die Insulinkonzentration des ersten Versuchsabschnittes erreicht wird.

Der Insulin/Glucose-Quotient der Versuche V_A in diesem vierten Versuchsabschnitt liegt im Mittel bei 5,50, wobei er zwischen 4,52 und 6,34 variiert. Er entspricht damit dem durchschnittlichen für die Erholungsphase ermittelten Quotienten, ist jedoch deutlich höher als der entsprechende für die ersten beiden Versuchsperioden berechnete, mittlere Vergleichswert.

Einzel- und Mittelwertangaben zu den durch die Glucagonbehandlung provozierten Glucose- und Insulinpeakflächen sowie zum insulinogenen Index sind der Tabelle 3 zu entnehmen.

Danach fällt die Insulinantwort bei glucagoninduzierter Hyperglykämie trotz eines flächenmäßig identisch reagierenden Glucosespiegels im Versuch K_{A1} deutlich geringer als im Vollversuch V_A aus. Der insulinogene Index beträgt mit $4,91 \pm 2,00$ (V_k 40,7 %; $n = 4$) auch nur 43 % des im Vollversuch V_A ermittelten Wertes. Offensichtlich verursacht die vorausgehende Glucosebelastung eine erhebliche und anhaltende Anhebung der β -Zellempfindlichkeit für Glucose.

Tabelle 4 enthält Angaben zu der im letzten Versuchsabschnitt freigesetzten Menge an Glucose bzw. Insulin. Zur Berechnung dieser Mengenangaben wurden die in Tabelle 3 wiedergegebenen Differenzflächen mit dem für jedes Tier getrennt ermittelten, extrazellulären Verteilungsvolumen (nach STANGASSINGER, 1986, 17,4 % kg LM) multipliziert.

Von den Ergebnissen her ist auffallend, daß die glucagoninduzierte Glucosefreisetzung beim Kontrollversuch K_{A1} im Mittel, aber auch bei allen Einzelangaben, geringfügig höher ist als im Vollversuch V_A mit der vorausgegangenen Glucosebelastung. Die trotz der unterschiedlichen Stoffwechselausgangslage festgestellte Ähnlichkeit der Ergebnisse in den beiden Versuchsansätzen läßt folgende Interpretationsmöglichkeiten zu: Entweder es wurden die gleichen Mechanismen zur Glucosefreisetzung (z.B. Glykogenolyse und/oder Gluconeogenese) durch die Glucagonbehandlung angesprochen, wobei dann allein die identische Glucagondosis und nicht der unterschiedliche Stoffwechselzustand an der quantitativen Ausprägung der Glucosebereitstellung beteiligt sein müßte, oder es wurden unterschiedliche Mechanismen angesprochen, wobei es nur rein zufällig zur annähernden Übereinstimmung der freigesetzten Glucosemengen kam. Mehr Information hierzu versprechen die nachfolgend wiedergegebenen Radioisotopenversuche.

Tabelle 3: Angaben zur Glucose- und Insulinpeakfläche sowie zum insulinogenen Index (Peakflächenquotient) im Versuchsabschnitt 4 (Glucagonbehandlung)

	Peakfläche ^{a)}		Insulinogener
Tier	Glucose	Insulin	Index
Vollversuch V _A			
A	2,15	23,91	11,12
B	1,06	18,12	17,08
C	1,09	16,47	15,10
D	1,41	11,33	8,01
F	2,41	13,95	5,79
$\bar{x} \pm s$	1,62 $\pm$ 0,62	16,76 $\pm$ 4,74	11,41 $\pm$ 4,73
Vk (%)	38,3	28,3	41,4
Kontrollversuch K _{A1}			
B	1,68	5,03	3,00
C	0,97	5,99	6,14
D	1,66	11,69	7,06
F	2,46	8,36	3,41
$\bar{x} \pm s$	1,69 $\pm$ 0,60	7,76 $\pm$ 2,97	4,91 $\pm$ 2,00
Vk (%)	35,5	38,3	40,7

a) Fläche zwischen der im Versuchsabschnitt 4 tatsächlich gemessenen Konzentrationsverlaufskurve und der gegen 600 min (Versuchsende extrapolierten Verlaufskurve des Versuchsabschnittes 3 (Erholungsphase, s. Abb. 10)

Tabelle 4: Angaben zur mobilisierten Menge an Glucose und Insulin im Versuchsabschnitt 4 (Glucagonbehandlung) der Versuche V_A und K_{A1}

Tier	mobilisierte Plasmaglucoſe (mmol)		mobilisiertes Insulin (mU)	
	V_A	K_{A1}	V_A	K_{A1}
A	11,16	- a)	124,15	-
B	5,16	8,16	88,04	23,06
C	6,12	6,66	102,06	37,10
D	8,42	9,86	67,40	69,57
F	14,11	14,37	81,74	48,99
$\bar{x}$	8,99	9,76	92,68	44,68
$\pm s$	3,68	3,34	21,55	19,69
Vk (%)	40,92	34,22	23,25	44,07

a) nicht beſtimmt

3.1.2 Verlauf der Radioaktivität und der spezifischen Radioaktivität von ^3H - und ^{14}C -Glucose im Blutplasma während bzw. nach einer i.v. Dauerinfusion von $[6\text{-}^3\text{H}]$ - und $[\text{U-}^{14}\text{C}]$ -Glucose

3.1.2.1 Auswirkung einer exogenen Glucosebelastung

Eine schematische Darstellung des zu erwartenden Verlaufes der Radioaktivität (RA) und der spezifischen Aktivität (SA) von ^3H - und ^{14}C -Glucose im Blutplasma während bzw. nach i.v. Dauerinfusion von $[6\text{-}^3\text{H}]$ - und $[\text{U-}^{14}\text{C}]$ -Glucose (Versuchsreihe A: Vollversuch V_A) zeigt Abbildung 11. Tatsächlich gemessene und graphische Angaben zur mittleren spezifischen ^{14}C - und ^3H -Radioaktivität von Plasmaglutose sind Tabelle A3 sowie Abbildung 12, zu entnehmen. Dabei werden die Daten der Vollversuche (V_A) und der Kontrollversuche ohne Glucagoninfusion (K_{A2}) in den Versuchsabschnitten 1, 2 und 3 infolge identischer Versuchsbedingungen wiederum zusammengefaßt und den in eben diesen Versuchsabschnitten des Kontrollversuches K_{A1} ermittelten Werten gegenübergestellt. Im einzelnen läßt sich folgendes feststellen:

Im Versuchsabschnitt 1 steigt die spezifische Aktivität von ^3H -Glucose im Blutplasma asymptotisch an (siehe Abbildung 12) ohne jedoch in den ersten 140 Minuten ein Konzentrationsplateau zu erreichen. Während sich bei den Kontrollversuchen K_{A1} (fehlende Glucosebelastung) dieser Anstieg weiter fortsetzt und im Mittel nach 4-6 Stunden ein Plateau von durchschnittlich 8,2 % D/mol erreicht wird, fällt die spezifische Aktivität bei den Versuchen V_A und K_{A2} mit Einsetzen der $[\text{U-}^{14}\text{C}]$ -Glucosedauerinfusion exponentiell ab. Der Minimalwert am Ende der Belastungsperiode (bei 280 min) beträgt durchschnittlich nur noch 22,8 % des am Ende der Kontrollperiode (140 min) erreichten Aktivitätspeaks. Auffallend ist die hohe Variabilität bei den Kontrollversuchen K_{A1} (durchschnittlicher V_k 26,2 %; $n = 4$), die in

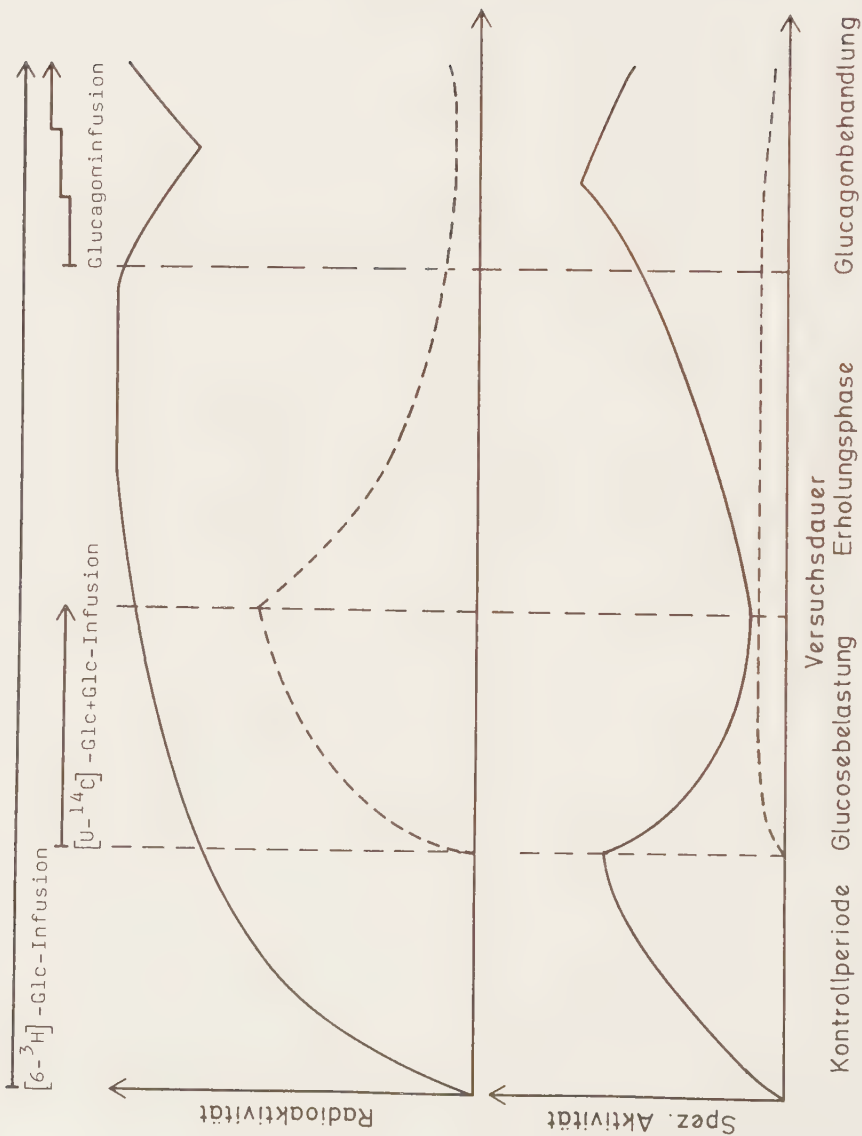


Abbildung 11: Schematische Darstellung des zu erwartenden Verlaufes der Radioaktivität (RA) und der spezifischen Radioaktivität (SA) von 3H -Glucose (—) und ^{14}C -Glucose (---) im Blutplasma während der Versuchsreihe A (Vollversuch V_A)

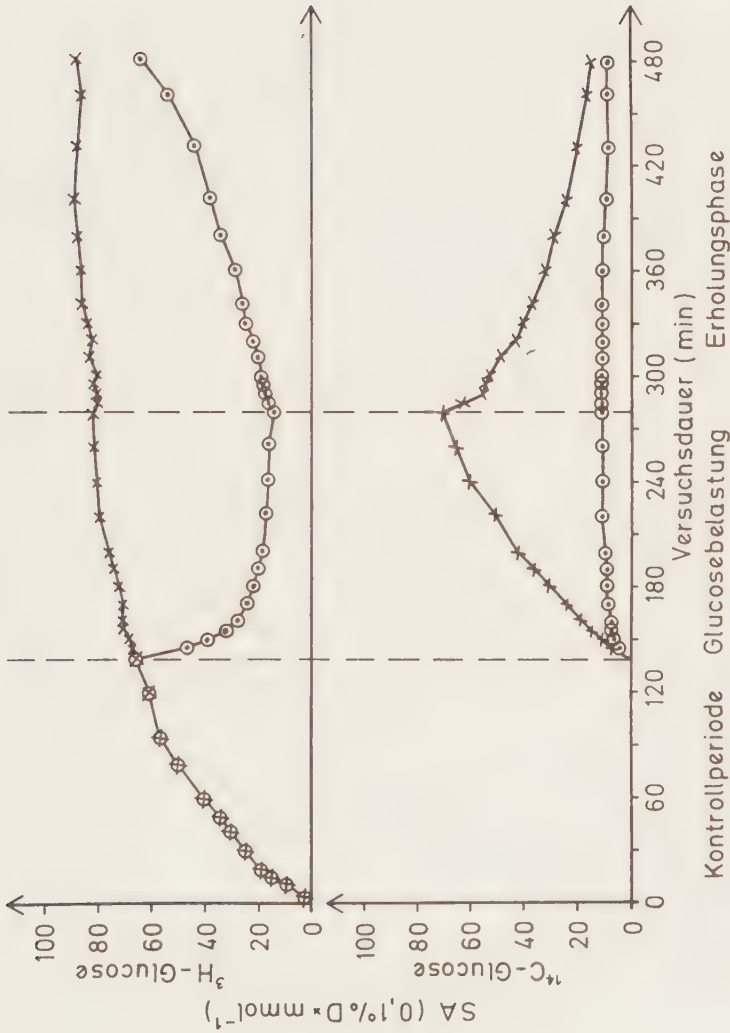


Abbildung 12: Mittlere spezifische ¹⁴C- und ³H-Radioaktivität (SA) von Plasmaglukose vor, während und nach exogener Glucosebelastung (Vollversuch V_A und Kontrollversuch K_{A2} ○—○; n=10) bzw. bei fehlender Glucosebelastung (Kontrollversuch K_{A1} x—x; n=4)

der Behandlungsphase kontinuierlich abfallende Variabilität (Abfall des Vk von 24 auf 8 %; $n = 10$) sowie die gleichbleibend niedrige Variabilität während der Erholungsphase (durchschnittlicher Vk 10,31 %; $n = 10$).

Die Radioaktivitätskurve von ^{14}C -Glucose zeigt in allen Versuchen im Versuchsabschnitt 2 (140-280 min) einen asymptotisch ansteigenden Verlauf (siehe Abbildung 13). Nach Erreichen eines Maximalwertes von im Mittel 25 % D/l (Vk 16,6 %; $n = 14$) zum Zeitpunkt 280 min nimmt die ^{14}C -Radioaktivität wieder kontinuierlich ab, wobei, wie Abbildung 13 zeigt, die Konzentrationskurve in ihrem weiteren Verlauf exponentiell abfällt (Funktionsanpassung: $\text{RA}(t) = 0,209 \cdot e^{-2,288 \cdot t} + 1,903 \cdot e^{-0,417 \cdot t}$; Anpassungskriterien: $\text{SQ} = 12,359$; $r = 0,99974$). So wird am Ende der Erholungsphase (480 min) ein RA-Minimum erreicht, das im Mittel nur noch 19 % des Maximalwertes zum Zeitpunkt 280 min ausmacht.

Die Verlaufskurve der spezifischen Aktivität von ^{14}C -Glucose (siehe Abbildung 12) erreicht auffallend schnell, und zwar bereits während der Glucosebelastung, ein Plateau, das über die Belastungsphase hinaus anhält. Dieses Verhalten der ^{14}C -Glc-SA steht im deutlichen Gegensatz zum ^{14}C -Glc-SA-Verlauf im Kontrollversuch K_{A1} . Bei letzterem wird durch die alleinige $[\text{U-}^{14}\text{C}]$ -Glucose-Applikation im Versuchsabschnitt 2 trotz asymptotischem Anstieg noch kein SA-Plateau erreicht. Zudem zeigt sich nach dem Absetzen der Tracerinfusion (zum Zeitpunkt 280 min) eine ausgeprägte exponentielle SA-Abnahme. Offensichtlich wird durch die kontinuierliche Applikation einer im Vergleich zur endogenen Glucoseproduktionsrate deutlich größeren Glucosemenge rascher eine Durchmischung und ein Gleichgewicht von ^{14}C -Glucose im Plasmapool erreicht als durch die alleinige Applikation des praktisch trägerfreien Tracers (K_{A1} -Versuche).

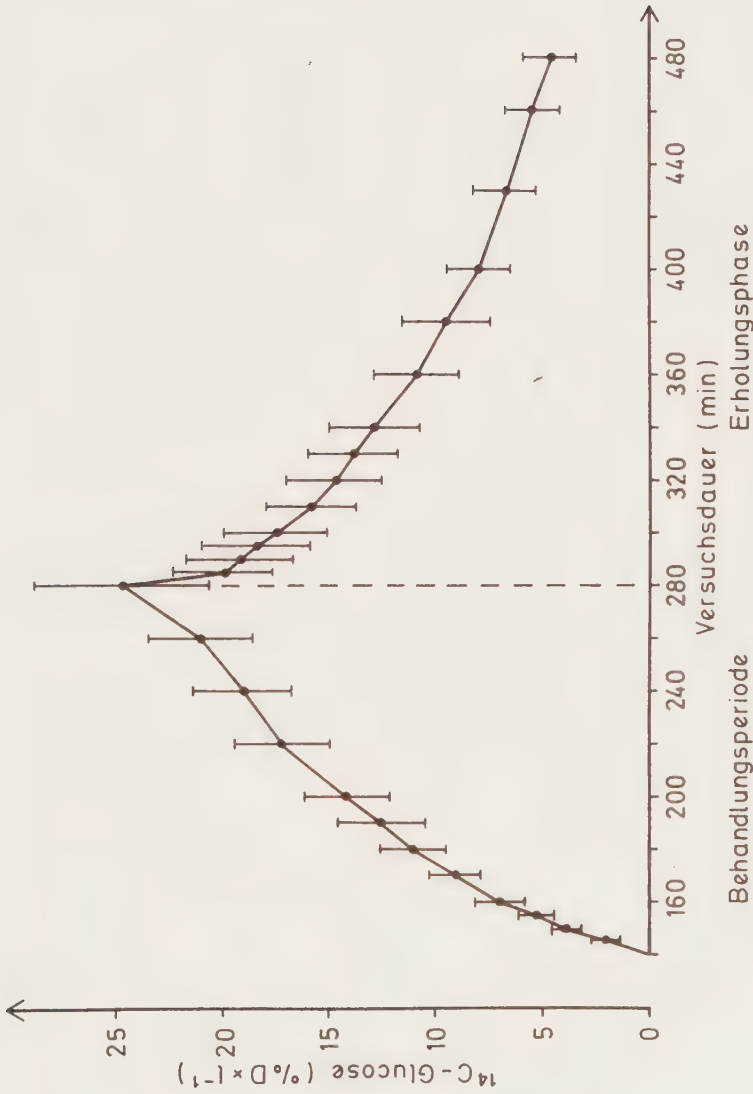


Abbildung 13: Mittlerer ($\bar{x}$ -s) Radioaktivitätsverlauf (RA) von ^{14}C -Glucose während und nach (Erholungsphase) einer i.v. Dauerinfusion von $[\text{U-}^{14}\text{C}]$ -Glucose bei den Versuchen V_A , K_{A1} und K_{A2} ($n=14$)

In keinem der Versuchsansätze wird jedoch das Niveau der jeweilig gleichzeitig ermittelten ^3H -Glc-SA erreicht. So beträgt die ^{14}C -Glc-SA zum Zeitpunkt 280 min bei den V_A - und K_{A2} - bzw. den K_{A1} -Versuchen im Mittel nur 75 % bzw. 84 % der ^3H -Glc-SA.

Die individuelle Variabilität im Verlauf der Glucosebelastung und Glucoseelimination entspricht den Erwartungen. Der Vk liegt im Versuchsabschnitt 2 zwischen 10 und 13 % (V_A und K_{A2}) bzw. bei rund 15 % (K_{A1}). Im Versuchsabschnitt 3 (Erholungsphase) werden diese Werte beibehalten (V_A und K_{A2}) bzw. mit einem Vk von im Mittel 7,7 % (K_{A1}) deutlich unterschritten.

3.1.2.2 Auswirkung einer Glucagonbehandlung

Wie von den Konzentrationskurven von Glucose und Insulin her bereits bekannt, zeigt auch der Verlauf der SA von ^3H - und ^{14}C -Glucose sowie der Verlauf der RA von ^{14}C -Glucose in den ersten 40 Minuten des letzten Versuchsabschnittes keinerlei sichtbare, glucagoninduzierte Veränderungen (siehe Abbildung 4 sowie Tabellen A4 a-c und A5 a+c). Vielmehr setzt sich der in der Erholungsphase beobachtete Anstieg der SA von ^3H -Glucose bzw. der Abfall der RA und SA von ^{14}C -Glucose zunächst fort. Auffällig anders verhält sich dagegen der Verlauf der ^3H -Glc-RA vor bzw. zu Beginn des vierten Versuchsabschnittes (Abbildung 15 und Tabelle A5 a+b). So zeigt die Radioaktivitätskurve von ^3H -Glucose in allen Versuchen mit Glucosebelastung (Vollversuche V_A und Kontrollversuche K_{A2}) bereits vor dem Ende der Erholungsphase bzw. zu Beginn der Glucagonbehandlung trotz beibehaltener Tracerinfusion einen unerwarteten, aber in allen Versuchen mehr oder weniger deutlich wiederkehrenden Abfall. Zahlenmäßige Angaben, die dieses Phänomen des ^3H -Glucoseabfalles charakterisieren, sind den Tabellen 5 a+b

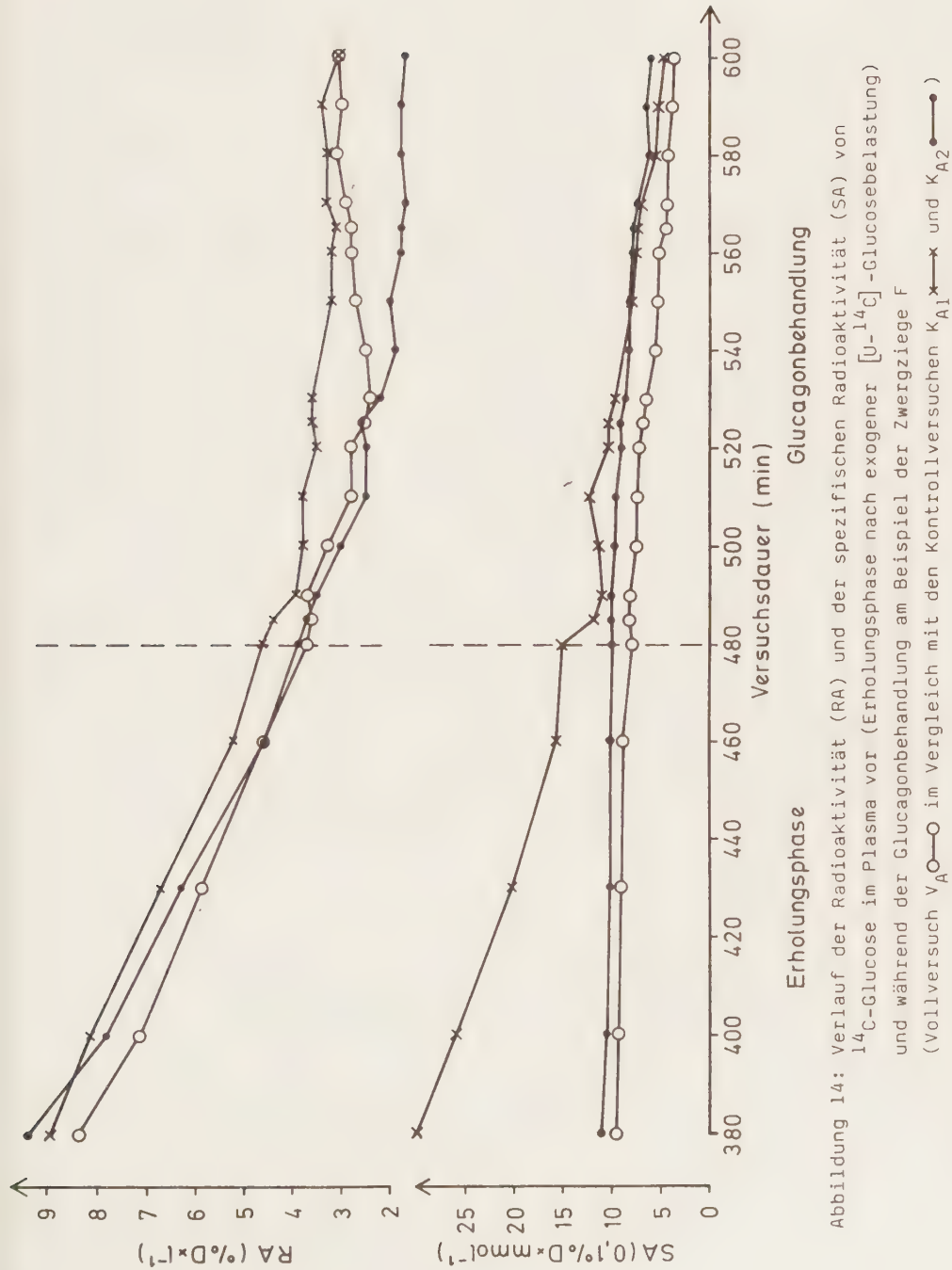


Abbildung 14: Verlauf der Radioaktivität (RA) und der spezifischen Radioaktivität (SA) von ^{14}C -Glucose im Plasma vor (Erholungsphase nach exogener $[\text{U-}^{14}\text{C}]$ -Glucosebelastung) und während der Glucagonbehandlung am Beispiel der Zwergziege F (Vollversuch V_A —O—O im Vergleich mit den Kontrollversuchen K_{A1} —x—x und K_{A2} —●—●)

Tabelle 5a: Typische Merkmale des Radioaktivitätsverlaufes (RA) von ^3H -Glucose im Versuchsabschnitt 3 (Erholungsphase) und 4 (Glucagonbehandlung) der Vollversuche V_A

Tier	Anfangs-RA-Plateau (% D/l)	Beginn (min)	Dauer (min)	RA-Verlaufsänderung (A_f) ^{a)} erreichte Änderung (% Plateau-RA)	RA-Wert bei Versuchsende (% Plateau-RA)
Vollversuch V_A					
A	37,3	430	60	75,7	102,0
B	39,5	490	60	70,5	86,1
C	36,5	460	110	81,0	94,5
D	28,2	460	40	76,1	89,3
F	32,5	460	70	83,8	109,2
$\bar{x}$	34,8	460	68	77,4	96,2
$\pm s$	4,5	21	26	5,1	9,4
Vk (%)	12,93	4,56	38,09	6,65	9,77

a) A_f bedeutet Abfall

Tabelle 5b: Typische Merkmale des Radioaktivitätsverlaufes (RA) von ^3H -Glucose im Versuchsabschnitt 3 (Erholungsphase) und 4 (Glucagonbehandlung) der Kontrollversuche K_{A1} (keine Glucosebelastung im Versuchsabschnitt 2: 140-280 min) und K_{A2} (keine Glucagonbehandlung im Versuchsabschnitt 4: 480-600 min)

Tier	Ausgangs-RA-Plateau (% D/I)	RA-Verlaufsänderung (A_f bzw. A_s) ^{a)}	RA-Wert bei Versuchsende (% Plateau-RA)	
		Beginn (min)	Dauer (min)	erreichte Änderung (% Plateau-RA)
Kontrollversuch K_{A1}				
B	39,2	500	160	117,4
D	23,8	490	170	116,9
F	23,5	530	130	112,9
$\bar{x}$	28,8	506,7	153,3	115,7
+s	9,0	20,8	20,8	2,5
$\sqrt{k}$ (%)	31,25	4,11	13,58	2,16
Kontrollversuch K_{A2}				
B	32,5	480	90	60,9
C	32,0	425	120	74,2
F	29,5	460	80	83,6
$\bar{x}$	31,3	475	97	72,9
+s	1,6	13	21	11,4
$\sqrt{k}$ (%)	5,11	2,78	21,53	15,63
				16,22

a) A_f bzw. A_s bedeutet Abfall bzw. Anstieg

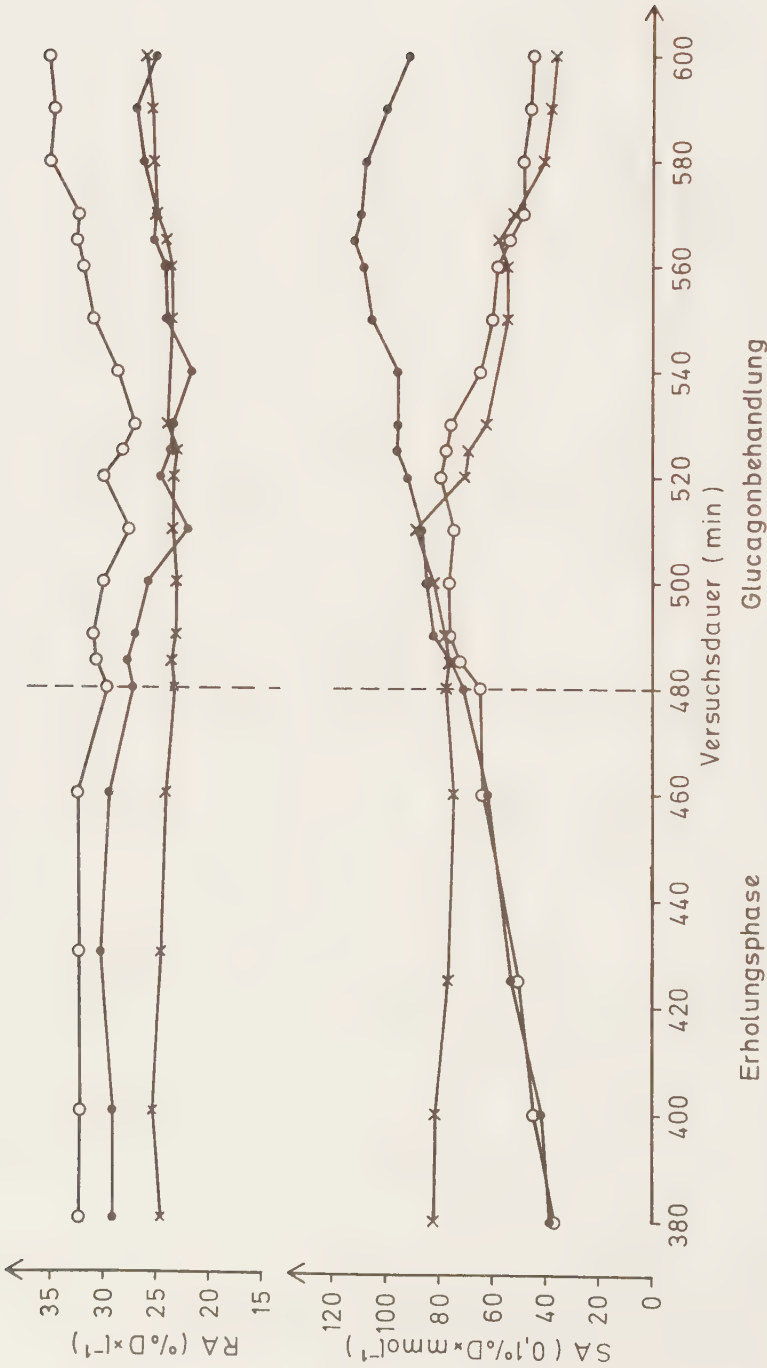


Abbildung 15: Verlauf der Radioaktivität (RA) und der spezifischen Radioaktivität (SA) von ^3H -Glucose im Plasma vor (Erholungsphase nach exogener $[\text{U-}^{14}\text{C}]$ -Glucosebelastung) und während der Glucagonbehandlung am Beispiel der Zwergziege F (vollversuch V_A —O—O im Vergleich mit den Kontrollversuchen K_{A1} —*—* und K_{A2} —●—●)

zu entnehmen. Danach zeigt der ^3H -Radioaktivitätsverlauf jeweils ausgehend von einem Plateau 20 Minuten (Vollversuch V_A) bzw. 5 Minuten (Kontrollversuch K_{A2}) vor Beginn der Glucagonbehandlung einen vorübergehenden Abfall, der rund 70 (V_A) bzw. 100 (K_{A2}) Minuten anhält und schließlich ein Minimum erreicht, das rund 78 bzw. 67 % des vorangegangenen Plateauwertes entspricht. Der Zeitpunkt des ^3H -Glc-RA-Wiederanstieges fällt ziemlich genau mit dem Beginn des Plasmaglucoseanstieges (V_A) bzw. der Normalisierung des Glucosespiegels (K_{A2}) zusammen. Während in den Vollversuchen V_A die RA von ^3H -Glucose am Versuchsende fast wieder den Plateauwert der Erholungsphase erreicht hat (96,2 %), ist in den Kontrollversuchen K_{A2} , also bei fehlender Glucagonbehandlung, nur ein Anstieg von 6 % auf einen Wert von durchschnittlich 73 % des RA-Plateauwertes zu beobachten (siehe auch Abbildung 15). Die Kontrollversuche ohne Glucosebelastung (K_{A1}) zeigen im letzten Versuchsabschnitt, ebenfalls ausgehend von einem RA-Plateau, nach durchschnittlich 27 Minuten eine ^3H -Radioaktivitätszunahme, die jedoch nur 16 % des Ausgangswertes beträgt.

Einzelangaben zum Verhalten der spezifischen Radioaktivität von ^3H -Glucose im Plasma sind in den Tabellen A5 a+c wiedergegeben. Sie vermitteln einen guten Einblick in die unterschiedliche Glucagonempfindlichkeit der Versuchstiere. Dabei sind jedoch jeweils für das einzelne Tier gute Übereinstimmungen hinsichtlich des prozentualen SA-Abfalls (und damit des Glucoseturnoveranstiegs; siehe 3.1.3) in den Kontrollversuchen im Vergleich zum jeweiligen Vollversuch vorhanden. So liegt eine gute Übereinstimmung bezüglich des zeitlichen Auftretens der SA-Maximalwerte in den Voll- und Kontrollversuchen bei den Zwergziegen B, D und F vor. Auffallend ist, daß die Zeitpunkte der SA-Maxima von ^3H -Glucose (hier: zum Zeitpunkt 504 min) fast exakt mit dem Auftreten der Konzentrationsminima von Glucose und Insulin im Plasma (siehe Tabelle A2 a) zusammenfallen. Der darauffolgende Abfall der ^3H -Glc-SA, ausgedrückt in % des Maximalwertes, liegt in den Vollversuchen im Mittel bei

32±14,6 %, in den Kontrollversuchen dagegen bei 44±12,7 % (K_{A1}) bzw. bei rund 12±5,6 % (K_{A2}).

Der Radioaktivitätsverlauf (RA) von ^{14}C -Glucose vor und während der Glucagonbehandlung wird in Abbildung 14 am Beispiel der Zwergziege F graphisch und in den Tabellen A4 a+b für alle Tiere zahlenmäßig wiedergegeben. Danach ist die bei den Vollversuchen (V_A) erst nach rund 45 Minuten (d.h. zum Zeitpunkt 525 min) einsetzende Glucagonwirkung anhand einer mehr oder minder deutlichen RA-Zunahme erkennbar. Die Fläche zwischen diesem ansteigenden ^{14}C -Glucose-radioaktivitätsverlauf und dem weiterhin abfallenden RA-Verlauf des Kontrollversuches K_{A2} (ohne Glucagonbehandlung) diene als Äquivalent für die glucagonbedingte Glucosefreisetzung. Unter Berücksichtigung des extrazellulären Verteilungsvolumens von Glucose bei Zwergziegen im Hungerzustand (nach STANGASSINGER, 1986, 17,4 % kg LM) kann entweder mit Hilfe der spezifischen Radioaktivität der infundierten Glucoselösung^{a)} oder anhand des durch Extrapolation des SA-Verlaufes während der Glucosebelastungsphase ermittelten SA-Plateaus von ^{14}C -Glucose die mit der Tracermobilisierung verbundene Plasmaglucosemenge berechnet werden. Wie Tabelle 6 zeigt, unterscheiden sich die nach diesen beiden Berechnungsmethoden ermittelten Glucosemengen tatsächlich um weniger als 5 %. So beträgt die anhand der Tracermobilisierung (mit Hilfe der Blut- ^{14}C -Glc-SA) ermittelte Glucosemenge in den Vollversuchen im Mittel 3,02 mmol ($n = 5$). Ohne Glucosebelastung (Kontrollversuch K_{A1}) verringert sich dieser Wert erwartungsgemäß, und zwar um durchschnittlich 86,4 % auf 0,42 mmol. Da bei fehlender Glucosebelastung eine Glykogenrepletion während der Phase der ^{14}C -Glucosedauerinfusion (K_{A1} , Versuchsabschnitt 2) auszuschließen ist, kann diese geringe, glucagoninduzierte ^{14}C -Glucosezunahme nur über eine Steigerung der Gluconeogenese aus ^{14}C -Glucosemetaboliten (Recycling) erfolgt sein.

a) Dies ist nur möglich, wenn die Glucoseinfusionsraten ein Mehrfaches der endogenen Glucoseproduktion ausmachen.

Tabelle 6: Vergleich der anhand des Konzentrationsverlaufes bzw. des ^{14}C -RA-Verlaufes von Plasmagucose im Versuchsabschnitt 4 der Vollversuche V_A und der Kontrollversuche K_{A1} (keine Glucosebelastung) ermittelten glucagoninduzierten Glucosemobilisierung

Tier mobilisierte Glucosemenge (mmol/2h) ermittelt anhand des Glucosekonzentrationsverlaufes a)		¹⁴ C-Glucose-RA-Verlaufes	
V_A		V_A	
K_{A1}		K_{A1}	
b)		c)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	
e)		e)	
d)		d)	

Bezieht man die anhand von ^{14}C -Glucose berechneten Glucosemengen auf die insgesamt mobilisierten Glucosemengen von 8,99 bzw. 9,76 mmol (siehe Tabelle 6), so macht diese in den Vollversuchen (V_A) nur rund ein Drittel (32,42 %) und in den Kontrollversuchen (K_{A1}) sogar nur rund 4 % der insgesamt ins Plasma eintretenden Glucose aus. Die in der zweiten Stunde der Glucagonbehandlungsphase bei den V_A - und K_{A1} -Versuchen leicht abfallende ^{14}C -Glc-SA (siehe Abbildung 14 und Tabellen A4 a+c) ist die logische Konsequenz dieser unproportionierten Mobilisierung von markierter und unmarkierter Glucose. Dies bedeutet entweder, daß die Leberglykogendepots vor der Glucosebelastung nur unvollständig entleert waren und deshalb während der Phase der Glucagonbehandlung beträchtliche Mengen dieses "alten" Glykogens zusammen mit dem neu synthetisierten Glykogen mobilisiert wurden oder, daß durch Glucagon vorwiegend die Gluconeogenese stimuliert wurde und dabei auch ^{14}C -markierte Glucosemetabolite (Recycling) Verwendung fanden. Insbesondere für erstere Annahme spricht der Befund, daß auch im Kontrollversuch K_{A1} durch Glucagon zwar beträchtliche Glucosemengen (109 % der mobilisierten Glucose des Vollversuches), aber nur eine vergleichsweise geringe ^{14}C -Glucose-Radioaktivität freigesetzt wurden.

3.1.3 Veränderungen im Glucoseumsatz

Grundlage der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Glucoseumsatzberechnungen ist das in Abbildung 16 wiedergegebene Stoffwechselmodell. Danach besteht das System "Organismus" bezüglich des metabolischen Glucoseflusses aus einem zentralen, sich rasch mischenden Glucosepool, der das Blut beinhaltet und in dem die spezifische Radioaktivität (SA) nach intravenöser Tracerapplikation gleich der im

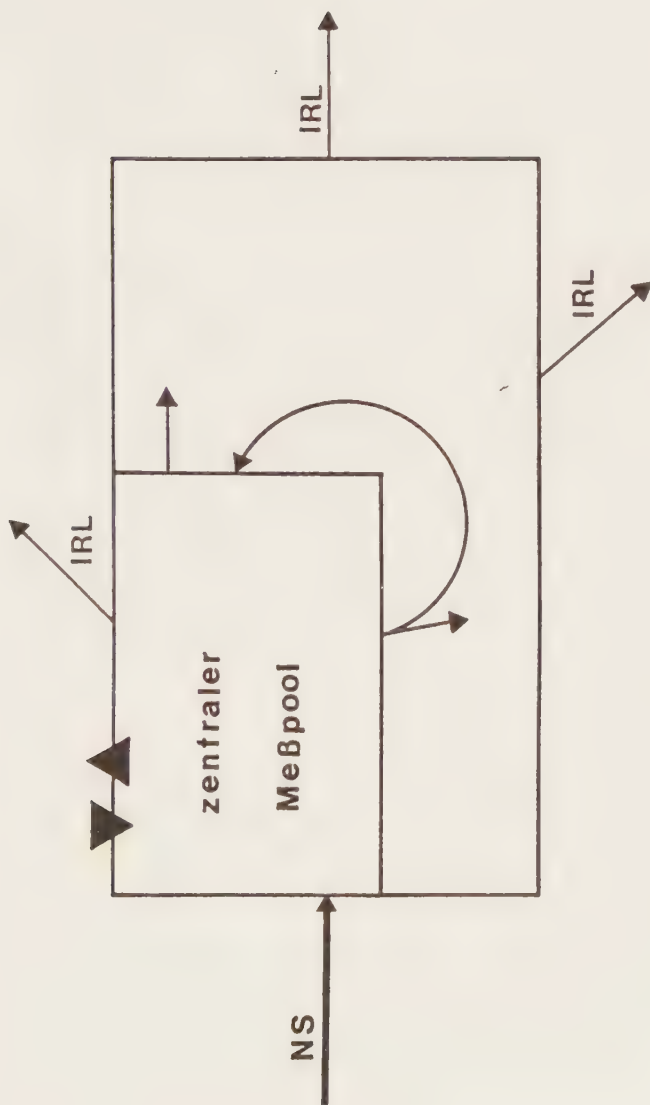


Abbildung 16: Stochastische Wiedergabe des metabolischen Glucoseflusses (nach STANGASSINGER, 1986)

NS= Neusynthese
 ▼ = Tracerapplikation
 IRL= Irreversibler Verlust
 ▲ = Probenentnahme

Blutplasma ist, sowie aus einem restlichen, nicht näher differenzierten Glucosebestand. Unter steady state-Bedingungen geht diese stochastische Systemanalyse von der Annahme aus, daß der über die Tracerverdünnung im zentralen Pool bestimmbare Glucoseeintritt (= input) in das System sich zur Summe aller irreversiblen Glucoseverluste (= output) mengenäquivalent verhält. Dabei kann der "input" bzw. "output" bestimmt werden, ohne daß ein detailliertes Wissen über das System selbst und das, was in ihm geschieht, vorliegen muß (STANGASSINGER, 1986).

Grundlage der in diesem, aber auch in den folgenden Abschnitten ermittelten irreversiblen Verlustraten (IRL)^{a)} und Recyclingraten (RC)^{b)} von Glucose ist die Kenntnis des differenzierten metabolischen Schicksals bestimmter radioaktiv markierter Positionen im Glucosemolekül. So wird z.B. bei Glucoseflußmessungen mit $[U-^{14}C]$ - Glucose deren spezifische Radioaktivität im zentralen Meßpool durch alle möglichen Komponenten eines Glucose-C-Recycling (z.B. über Lactat, Pyruvat, Alanin) beeinflusst, was bedeutet, daß der hier zu messende irreversible Verlust einen Nettofluß wiedergibt, der unter Fließgleichgewichtsbedingungen mengenäquivalent zur Glucoseneusyntheserate aus exogenen und endogenen Vorstufen ist.

a) Der irreversible Verlust (IRL) ist die Flußrate, mit der Glucose das System unwiederbringlich verläßt. Er gilt als ein komplex zusammengesetzter Vorgang, der u.a. enzymatische Umwandlung, Exkretion, langfristige Speicherung u.s.w. umfassen kann (siehe auch STANGASSINGER, 1986).

b) Recycling (RC) bezeichnet den über die Gluconeogenese erfolgenden Wiedereintritt von Metaboliten des Glucosestoffwechsels in das Ausgangskompartiment, von wo aus sie dann erneut ganz oder teilweise in den nachfolgenden Stoffwechselprozeß einbezogen werden. Beim chemischen RC werden Stoffwechselprodukte der Glucose (z.B. Lactat, Alanin) über die Gluconeogenese wieder in den Bestand an freier Glucose eingeschleust (z.B. Cori- oder Alaninzyklus).

Bei Glucoseflußmessungen mit $[6-^3\text{H}]$ -Glucose birgt der Verlauf der SA (t) mit Ausnahme eines Glucoserecycling über Oxalacetat (z.B. in Form von Lactat, Pyruvat und Alanin) ebenfalls alle anderen Recyclingkomponenten. Dies bedeutet, daß der mit $[6-^3\text{H}]$ -Glucose gemessene irreversible Glucoseverlust gegenüber dem mit $[U-^{14}\text{C}]$ -Glucose gemessenen um den Betrag dieses Recycling über Oxalacetat größer ausfällt. Unter steady state-Bedingungen ist dieser $\text{IRL}_{6\text{T}}$ deshalb mengenäquivalent zu der insgesamt über Oxalacetat laufenden Gluconeogeneserate.

Die Applikation der verwendeten Tracer erfolgte über eine mehrstündige ($[U-^{14}\text{C}]$ -Glucose: 2,33 h; $[6-^3\text{H}]$ -Glucose: 10 bzw. 11 h) intravenöse Dauerinfusion. Bei dieser Technik geht üblicherweise das nach asymptotischem Verlauf zu erzielende SA-Plateau in die Berechnung des Glucoseumsatzes ein. Wird jedoch, wie in der vorliegenden Untersuchung meist der Fall, innerhalb eines knapp bemessenen Beobachtungszeitraumes kein SA-Plateau erreicht, so kann der für die konventionelle Berechnung erforderliche Gleichgewichtswert auch durch mathematische Extrapolation ermittelt werden.

Allgemeine Funktionsgleichungen, die den Verlauf der SA (t) nach Tracerdauerinfusion mathematisch beschreiben und die aufzeigen, daß auch für den Tracer - nach unendlich langer Zeit - ein steady state erzielt werden kann, stellte STEELE auf (STEELE, 1956; STEELE et al., 1959). Demnach gilt für die beiden gleichzeitig ablaufenden Vorgänge der Tracerinvasion und -elimination die Gleichung $\text{SA} = \frac{\text{F}}{\text{IRL}}$ mit F als Tracerinfusionsrate bzw. nach HETENYI und NORWICH (1974) ("Zilversmit-Formel") die Beziehung $\text{IRL} = \frac{\text{F}}{\text{SA-Plateau}}$ (genaue Herleitung siehe STANGASSINGER, 1986). Letztere Formel diente in der vorliegenden Arbeit als Berechnungsgrundlage für die Ermittlung des irreversiblen $[6-^3\text{H}]$ und $[U-^{14}\text{C}]$ -Glucose-spezifischen Verlustes.

Die zur Berechnung des jeweiligen SA-Plateauwertes (Extrapolation der asymptotisch verlaufenden SA (t)-Kurve) notwendige Kurvenanpassung an die vorhandenen Meßwerte er-

folgte ausnahmslos mit Hilfe eines Digitalcomputers (Wang-Professional-Computer; Frankfurt) mittels eines von der Fa. Thomae, Biberach, entwickelten, iterativen, nichtlinearen Regressionsverfahrens. Dabei wird durch wiederholtes Anwenden eines bestimmten Algorithmus eine Regressionskurve nach der Methode der kleinsten Abweichungsquadrate ("least square"-Methode) allen Datenpaaren mit beliebiger Genauigkeit angepaßt. Die Güte der Anpassung wird durch die Summe der verbleibenden Abstandsquadrate (SQ) sowie durch den Korrelationskoeffizienten (r) wiedergegeben. Beispiele für derartig angepaßte Kurven sind in Abbildung 17 und der dazugehörigen Tabelle 7 wiedergegeben.

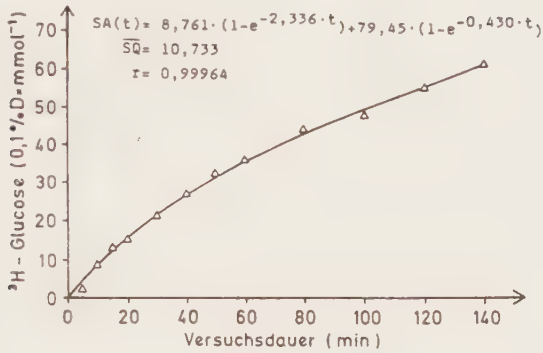
Dabei wurde der zeitabhängigen Zunahme der spezifischen Tracerradioaktivität im Plasma (Kontrollperiode) eine 2-fach exponentielle Kurve folgender allgemeiner Form zugrunde gelegt:

$$SA(t) = c_1 \cdot (1 - e^{-b_1 \cdot t}) + c_2 \cdot (1 - e^{-b_2 \cdot t})$$

Zur optimalen Anpassung an die abfallenden SA(t)-Verlaufskurven der Behandlungsperiode fand dagegen eine 3-fach linear zusammengesetzte Exponentialfunktion ($SA(t) = c_1 \cdot e^{-b_1 \cdot t} + c_2 \cdot e^{-b_2 \cdot t} + c_3 \cdot e^{-b_3 \cdot t}$) Anwendung. Beispiele für Glucoseumsatzberechnungen anhand von SA(t)-Werten, die jeweils über die in Abbildung 17 wiedergegebene Funktion für unterschiedliche t-Werte extrapolatorisch ermittelt wurden, sind in Tabelle 7 wiedergegeben. Danach gilt folgendes:

Während die extrapolierte SA(t) Kurve von ^{14}C -Glucose in der Regel bereits zum Zeitpunkt $t = 5 \text{ h}$ ein stabiles Plateau aufweist (der Glucoseumsatz verändert sich bei späteren t-Werten nur mehr unwesentlich) wird bei der zeitabhängigen Zunahme (Versuchsabschnitt 1) bzw. Abnahme (Versuchsabschnitt 2) der spezifischen ^3H -Glucoseaktivität ein Gleichgewichtszustand erst zwischen der 10. und 15. Stunde erreicht. Zur Begründung dieses unterschiedlichen SA(t)-Verhaltens sei auf die Anmerkungen in Abschnitt 3.1.2.1 verwiesen.

Versuchsabschnitt 1: Kontrollperiode (0-140 min)



Versuchsabschnitt 2: Glucosebelastungsperiode (140-280 min)

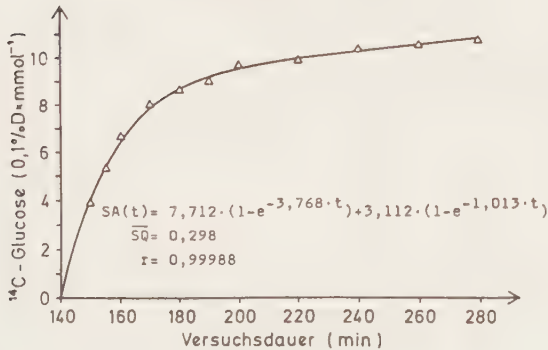
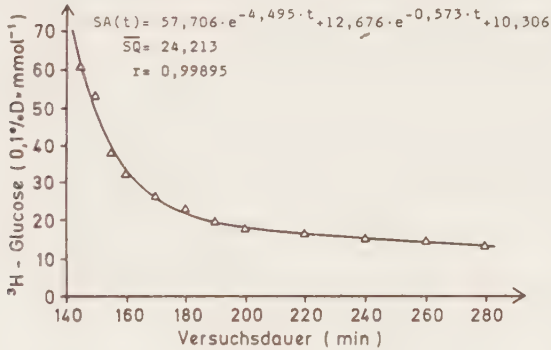


Abbildung 17:

Graphische Wiedergabe des berechneten Verlaufes der spezifischen Radioaktivität $SA(t)$ von Plasmaglukose während i.v. Dauerinfusion von $[6-^3H]$ -Glucose und $[U-^{14}C]$ -Glucose am Beispiel der Zwergziege C

Tabelle 7: Glucoseumsatzberechnungen im Versuchsabschnitt 1 (Kontrollperiode) und 2 (Glucosebelastungsperiode) am Beispiel der Ziege C: Einfluß des Extrapolationszeitpunktes (t) bei der Ermittlung eines SA-Plateauwertes mit den in Abbildung 17 wiedergegebenen mathematischen Funktionen

Berechnungsgrundlage		Irreversibler Verlust ermittelt mit Hilfe von	
allg. mathematische Formulierung	extrapolierte Versuchszeit t (h)	$[6-^3H] - Glc$ (Versuchsabschnitt 1) ($mmol \cdot h^{-1} \cdot kg^{-0,75}$)	$[6-^3H] - Glc$ $[U-^{14}C] - Glc$ (Versuchsabschnitt 2)
F ^c) SA (t) ^b)	2,3 ^a)	1,062	4,071
	5,0	0,959	5,001
	10,0	0,944	5,356
	15,0	0,943	5,398
	20,0	0,943	5,409
			5,504
			5,344
			5,343
			5,343
			5,343

- a) Zeitpunkt der Beendigung des Versuchsabschnitts 1 (0-140 min) und des Versuchsabschnitts 2 (140-280 min)
b) als Plateauwert angenommener SA-Wert (0,1 % D/mmol) zum Zeitpunkt t
c) Tracerinfusionsrate (100 % D/h)

3.1.3.1 Einfluß einer exogenen Glucosebelastung

Da die Stoffwechselausgangslage der Tiere unmittelbar vor der 140-minütigen Glucosebelastung als Kontrollzustand (Versuchsabschnitt 1) kinetisch miterfaßt werden sollte, war es notwendig, die intravenöse Dauerinfusion von $[6-^3\text{H}]$ -Glucose bereits vor der Glucosedauerbelastung zu beginnen. Weil in diesem Kontrollabschnitt ebenso wie im Versuchsabschnitt 2 (Glucosebehandlung) die Einstellung eines ^3H -Glc-SA-Plateaus nicht abgewartet werden konnte (siehe Abbildung 12), wurde der jeweilige Plateauwert durch Extrapolation einer den SA-Verlauf beschreibenden Funktion (siehe Abbildung 17) berechnet. Unter Berücksichtigung dieses SA-Wertes und der zugehörigen $[6-^3\text{H}]$ -Glucoseinfusionsrate konnte dann - wie bereits dargelegt - der metabolische Glucosefluß sowohl während der Kontrollperiode wie auch während der Behandlungsperiode ermittelt werden. Demgegenüber konnte die Erstellung eines ^{14}C -Glc-SA-Plateaus abgewartet werden. Es wurde in der Regel zwischen der 5. und 6. Stunde nach Infusionsbeginn erreicht. Die tracerspezifischen metabolischen Glucoseflüsse in den ersten beiden Versuchsabschnitten der Versuchsreihe A sind in Tabelle 8 wiedergegeben. Danach läßt sich folgendes feststellen:

Der in 13 Versuchen an 5 Tieren gemessene $[6-^3\text{H}]$ -spezifische Glucosefluß liegt während der Kontrollperiode im Mittel bei $0,925 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-0,75}$. Die Belastungen mit Glucose führten erwartungsgemäß zu einer deutlichen Anhebung des Glucoseflusses und zwar auf insgesamt $6,487 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-0,75}$.

Bemerkenswert erscheint, daß dieser neue Glucosebruttofluß nicht einfach der Summe aus endogener (Kontrollperioden-) Flußrate und Glucoseinfusionsrate (durchschnittliche Belastung $6,37 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-0,75}$) entspricht, sondern deutlich darunter liegt. Die exogene Glucosezufuhr hatte offensichtlich zu einer Reprimierung der endogenen Glucosebereitstellung geführt, deren Umfang nach Abzug der jewei-

Tabelle 8: Metabolischer Glucosefluß vor (Versuchsabschnitt 1) und während einer i.v. Glucosedauerbelastung^{a)} (Versuchsabschnitt 2) bei hungernden Zwergziegen ermittelt mit Hilfe einer intravenösen Dauerinfusion von $[6-^3\text{H}]$ -bzw. $[\text{U}-^{14}\text{C}]$ -Glucose

1) Glucosebruttofluß

Tier	Versuchsart	Glucosebruttofluß gemessen über			
		$[6-^3\text{H}]$ -Glc ohne Glucosebelastung	mit Glucosebelastung ($\text{mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-0,75}$)	$[\text{U}-^{14}\text{C}]$ -Glc ohne Glucosebelastung	mit Glucosebelastung
A	V_A	1,019	6,702	-	6,793
B	V_A	0,817	7,297	-	7,181
	K_{A1}	0,720	-	0,705	-
	K_{A2}	0,978	6,349	-	6,314
C	V_A	0,943	5,409	-	5,343
	K_{A1}	1,159	-	1,058	-
	K_{A2}	0,778	6,400	-	6,378
D	V_A	0,897	7,126	-	7,256
	K_{A1}	0,850	-	0,806	-
	K_{A2}	1,159	6,450	-	6,361
F	V_A	0,837	6,437	-	6,464
	K_{A1}	0,850	-	0,787	-
	K_{A2}	0,837	5,994	-	5,843
$\bar{x}$ (n = 5 bzw. 4)		0,925	6,487	0,839	6,472
+s		0,082	0,407	0,152	0,438
$\bar{V}_k$ (%)		8,86	6,27	18,12	6,77

a) $6,37 \pm 0,5 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-0,75}$

Tabelle 8 (Fortsetzung): 2) Glucosenettofluß^{a)}

Tier	Versuchsart	Glucosenettofluß gemessen über:			
		$[6-^3\text{H}]$ -Glc		$[U-^{14}\text{C}]$ -Glc	
		ohne Glucosebelastung	mit Glucosebelastung	ohne Glucosebelastung	mit Glucosebelastung
		(mmol·h ⁻¹ ·kg ^{-0,75})			
A	V _A	1,019	-0,016	-	0,075
B	V _A	0,817	0,272	-	0,156
	K _{A1}	0,720	-	0,705	-
	K _{A2}	0,978	0,124	-	0,089
C	V _A	0,943	0,168	-	0,102
	K _{A1}	1,159	-	1,058	-
	K _{A2}	0,778	0,166	-	0,144
D	V _A	0,897	0,127	-	0,257
	K _{A1}	0,850	-	0,806	-
	K _{A2}	1,159	0,409	-	0,360
F	V _A	0,837	0,251	-	0,278
	K _{A1}	0,850	-	0,787	-
	K _{A2}	0,837	0,160	-	0,009
$\bar{x}$ (n = 5 bzw. 4)		0,925	0,164	0,839	0,155
+s		0,082	0,107	0,152	0,090
$\bar{v}_k$ (%)		8,86	65,24	18,12	58,06

a) Glucosenettofluß berechnet als: Glucosebruttofluß - Glucoseinfusionsrate

ligen Glucoseinfusionsrate ersichtlich wird (siehe Tabelle 8). Danach führt die exogene Glucosebelastung zu einer Reduzierung der Glucoseneusynthese (IRL_{14}) und der Gluconeogenese (IRL_{6T}) um rund 82 % auf durchschnittlich 0,155 bzw. 0,164 $\text{mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-0,75}$. Was das Glucose-Recycling anbelangt, so bewirkt die Glucosebelastung eine Abnahme des Lactat/Alanin-Recycling um 18 % auf die unbedeutende Flußrate von im Mittel 0,04 $\text{mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-0,75}$. Da diese Reprimierung relativ betrachtet (zum jeweiligen IRL_{6T}) einen Abfall von 5,61 auf 0,07 % bedeutet, kann praktisch von einem Verschwinden dieses Stoffwechselweges während der Glucosebelastung ausgegangen werden.

Graphische und zahlenmäßige Angaben zum metabolischen Glucosefluß während der Erholungsphase (Versuchsabschnitt 3) sind Abbildung 18 und Tabelle A6 zu entnehmen. Dabei kann der zeitabhängigen Normalisierung (= Abnahme) der irreversiblen Verlustrate von $[6-^3\text{H}]$ -Glucose im Blut eine 3-fach exponentielle Kurve zugrundegelegt werden. Am Ende der 200-minütigen Erholungsphase liegt der IRL_{6T} mit 1,199 $\text{mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-0,75}$ immer noch um 32 % über dem im Versuchsabschnitt 1 ermittelten Wert. Demgegenüber zeigen dieselben Tiere im Versuchsabschnitt 3 der Kontrollversuche K_{A1} (ohne Glucosebelastung) eine mittlere Turnoverrate von 0,887 $\text{mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-0,75}$.

3.1.3.2 Einfluß einer Glucagonbehandlung

Am Beispiel der Zwergziege F werden in Abbildung 19 die tracerspezifischen irreversiblen Verlustraten vor und während der 2-stündigen Glucagonbehandlung im Vollversuch V_A und in den beiden Kontrollversuchen K_{A1} und K_{A2} dargestellt. Außerdem sind in den Tabellen 9 a+b wichtige Merkmale der IRL_{6T} -Kurvenverläufe bei 3 bzw. 5 Tieren wiedergegeben. Danach deutet sich an, daß der metabolische Glucosefluß bei den V_A -Versuchen über den Beginn der Glucagonbe-

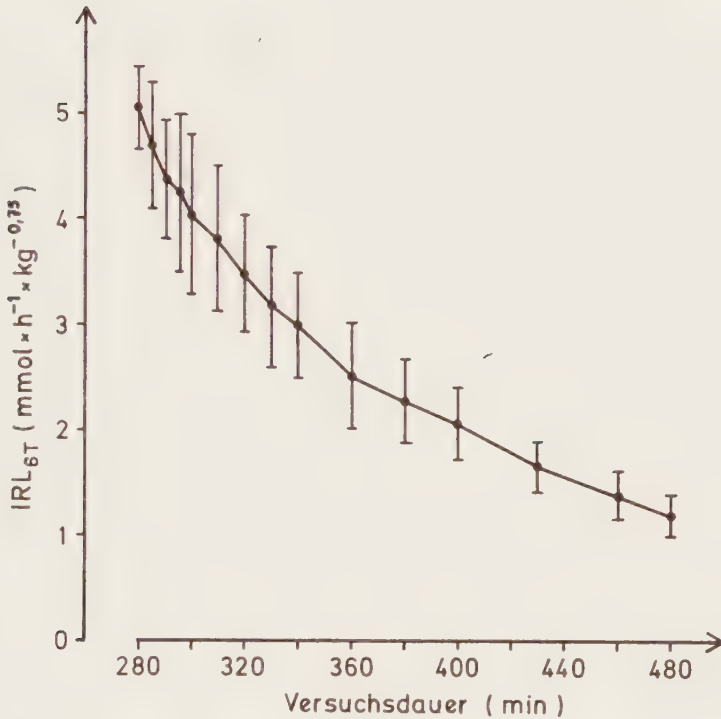


Abbildung 18:

Normalisierung des metabolischen Glucoseflusses nach i.v. Glucosebelastung (Erholungsphase der Versuche V_A und K_{A2}): Mittlerer ($\bar{x} \pm s$) Verlauf des irreversiblen Verlustes von [6-³H]-Glucose (n=8)

Berechneter Verlauf:

$$IRL(t) = 0,630 \cdot e^{-2,068 \cdot t} + 4,346 \cdot e^{-0,373 \cdot t} - 0,078 \cdot e^{-0,237 \cdot t}$$

Anpassung:

$$\overline{SQ} = 0,01994$$

$$r = 0,99993$$

Tabelle 9a: Typische Merkmale des metabolischen Glucoseflusses (IRL_{6T}) zu Beginn ($t=480$ min), während und am Ende ($t=600$ min) der Glucagonbehandlung (Versuchsabschnitt 4) der Vollversuche V_A

Tier	IRL_{6T} ($t = 480$ min)	IRL_{6T} -Minimum ($mmol \cdot h^{-1} \cdot kg^{-0,75}$)	IRL_{6T} -Maximum ($t = 600$ min)
Vollversuch V_A			
A	1,142 (112,1) ^{a)}	0,933 (91,6) ^{a)}	525 ^{b)} 1,615 (158,5) ^{a)}
B	1,273 (155,8)	0,952 (116,5)	540 1,208 (147,8)
C	1,195 (126,7)	0,898 (95,2)	530 1,048 (111,1)
D	1,003 (111,8)	0,747 (83,2)	530 1,259 (140,3)
F	1,114 (133,1)	0,894 (106,8)	520 1,589 (190,7)
$\bar{x}$	1,145 (127,9)	0,885 (98,7)	529 1,344 (149,7)
$+s$	0,100 (18,1)	0,081 (13,1)	7 0,248 (28,9)
V_k (%)	8,73 (14,18)	9,70 (13,27)	1,40 18,40 (19,30)

a) % des IRL_{6T} im Versuchsabschnitt 1

b) Zeitpunkt (min) des IRL_{6T}

Tabelle 9b: Typische Merkmale des metabolischen Glucoseflusses (IRL_{6T}) zu Beginn ($t=480$ min), während und am Ende ($t=600$ min) der Glucagonbehandlung der Kontrollversuche K_{A1} (keine Glucosebelastung im Versuchsabschnitt 2: 140-280 min) und K_{A2} (keine Glucagonbehandlung im Versuchsabschnitt 4: 480-600 min)

Tier	IRL _{6T} (t = 480 min)	IRL _{6T} -Minimum (mmol·h ⁻¹ ·kg ^{-0,75})		IRL _{6T} -Maximum (t = 600 min)
Kontrollversuch K _{A1}				
B	0,682 (99,8) ^{a)}	-	-	1,045 (145,2) ^{a)}
D	1,002 (114,1)	-	-	1,456 (171,2)
F	0,912 (107,3)	-	-	1,874 (220,5)
$\bar{x}$	0,865 (107,1)	-	-	1,458 (179,0)
+s	0,165 (7,1)	-	-	0,414 (38,2)
$\bar{V}k$ (%)	19,7 (6,63)	-	-	28,39 (21,34)
Kontrollversuch K _{A2}				
B	1,233 (126,0) ^{a)}	0,831 (84,97) ^{a)}	565 ^{b)}	1,060 (109,0) ^{a)}
C	1,623 (208,5)	1,004 (129,0)	590	1,052 (135,1)
F	1,006 (120,1)	0,713 (85,1)	565	0,855 (102,1)
$\bar{x}$	1,287 (151,5)	0,849 (99,7)	573	0,989 (115,4)
+s	0,312 (49,4)	0,146 (25,4)	14	0,116 (17,4)
% VK	24,24 (32,62)	17,20 (25,46)	2,44	11,73 (15,09)

a) % des IRL_{6T} im Versuchsabschnitt 1

b) Zeitpunkt (min) des IRL_{6T} -Minimums

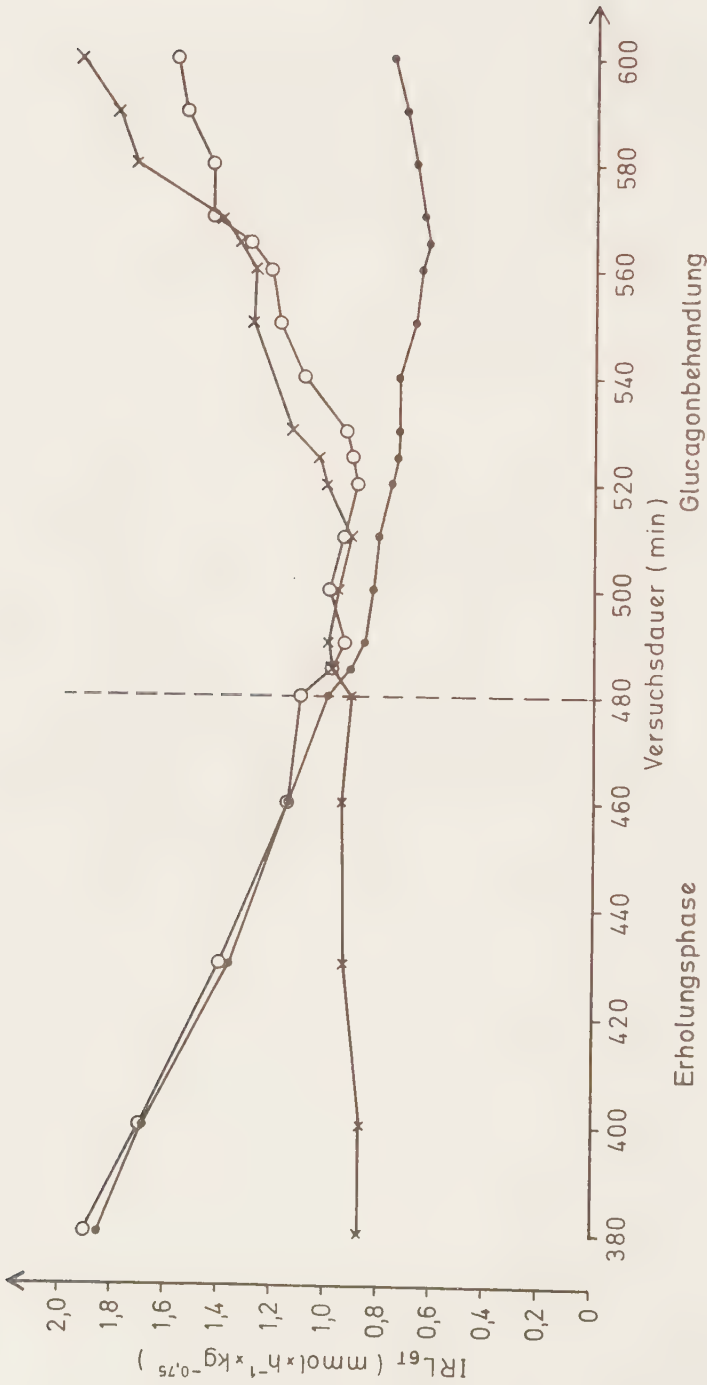


Abbildung 19: Metabolischer Glucosefluß vor (Erholungsphase) und während der Glucagonbehandlung am Beispiel der Zwergziege F (VAO ○ ; KA_1 × und KA_2 ●): Verlauf des irreversiblen Verlustes von $[6-^3H]$ -Glucose

handlung hinaus weiter absinkt und nach rund 49 min (bei $t = 529$ min) ein Minimum von $0,885 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-0,75}$ erreicht.

Auffallend ist die gute Übereinstimmung der IRL_{6T} -Minima mit den die Stoffwechselausgangslage (Versuchsabschnitt 1) kennzeichnenden Glucoseumsatzraten. Als Ausdruck der Glucagonwirkung erfolgt anschließend ein relativer Anstieg so daß zum Zeitpunkt 600 min ein Maximum erreicht wird, das rund 17 % bzw. 40 % über dem IRL_{6T} zur Zeit $t = 480$ min bzw. über dem IRL_{6T} -Minimum liegt.

Analog zum Verhalten der Plasmaglucose (siehe Tabelle A2 b) und der RA von ^{14}C -Glucose (siehe Tabelle A4 b) zeigt der IRL_{6T} -Verlauf in den Kontrollversuchen ohne Glucosebelastung (K_{A1}) unter Glucagonbehandlung einen stärkeren Turnoveranstieg (um rund 29 %) als in den entsprechenden Vollversuchen (V_A), wobei wiederum die früher einsetzende Glucagonwirkung und der niedrigere Glucoseturnover zum Zeitpunkt 480 min bei der Beurteilung der Ergebnisse in Betracht gezogen werden müssen.

3.2 Versuchreihe B: Zum Glucosestoffwechselverhalten von hungernden bzw. hungrigen und glucosuretischen Zwergziegen vor, während und nach experimentell induzierten, metabolischen "Ungleichgewichtsbedingungen" (Glucosebelastung bzw. Glucagonbehandlung)

In einer zweiten Versuchsreihe (V_B) wurde, versucht anhand des Umfanges der nichtsynthetischen ^{14}C -Fixierung (über $^{14}\text{CO}_2$) im Oxalacetat einen quantitativen Einblick in den gluconeogenetischen Stoffwechselweg zu erhalten. Dabei können nach STANGASSINGER (1986) 50 % aller Carboxylgruppen des synthetisierten Phosphoenolpyruvats markiert werden.

Dies bedeutet für ein aus je 2 C₃-Komponenten neu synthetisiertes Glucosemolekül, daß insgesamt ein Sechstel der Kohlenstoffatome (50 % in C₃- und 50 % in C₄-Position) eine radioaktive Kennzeichnung tragen können. Um diesen "nicht-synthetischen" Kohlenstofftransfer in die Glucose verfolgen zu können, war es notwendig zusätzlich zu den bereits in der Versuchsreihe A durchgeführten Bestimmungen auch die spezifische ¹⁴C-Radioaktivität von CO₂ im Blut während einer NaH¹⁴CO₃-Infusion zu verfolgen. Abgesehen von der Ermittlung der ¹⁴C-Transferraten konnten bei allen anderen nachfolgend wiedergegebenen kinetischen Ergebnissen die bereits erörterten Berechnungsgrundlagen Verwendung finden. In der nachfolgenden Darstellung werden die bei zwei verschiedenen Stoffwechselausgangslagen (hungernd = V_{B-H} und hungernd mit Phlorizinvorbehandlung = V_{B-H+P}) an 4 Zwergziegen jeweils ermittelten Ergebnisse einander gegenübergestellt.

3.2.1 Konzentrationsverlauf von Glucose im Blutplasma

3.2.1.1 Auswirkung einer exogenen Glucosebelastung

Die Glucosekonzentration im Blutplasma entspricht auch in der Versuchsreihe B prinzipiell dem für die Vollversuche in Abbildung 6 wiedergegebenen Verlauf. Zahlenmäßige und graphische Angaben zur mittleren Glucosekonzentration im Plasma vor (Kontrollperiode), während (Belastungsperiode) und nach der exogenen Glucosebelastung (Erholungsphase) sind Tabelle A7 und Abbildung 20 zu entnehmen. Danach ist folgendes festzuhalten:

Der in der Kontrollperiode (0-140 min) erhaltene Plasmaglukosemittelwert von 3,30 mmol/l bei hungernden Zwergziegen unterscheidet sich von dem in der Versuchsreihe A ermittelten Kontrollwert nur unwesentlich (- 3 %). Die phlorizininduzierte Glucosurie führt demgegenüber zu einem mit

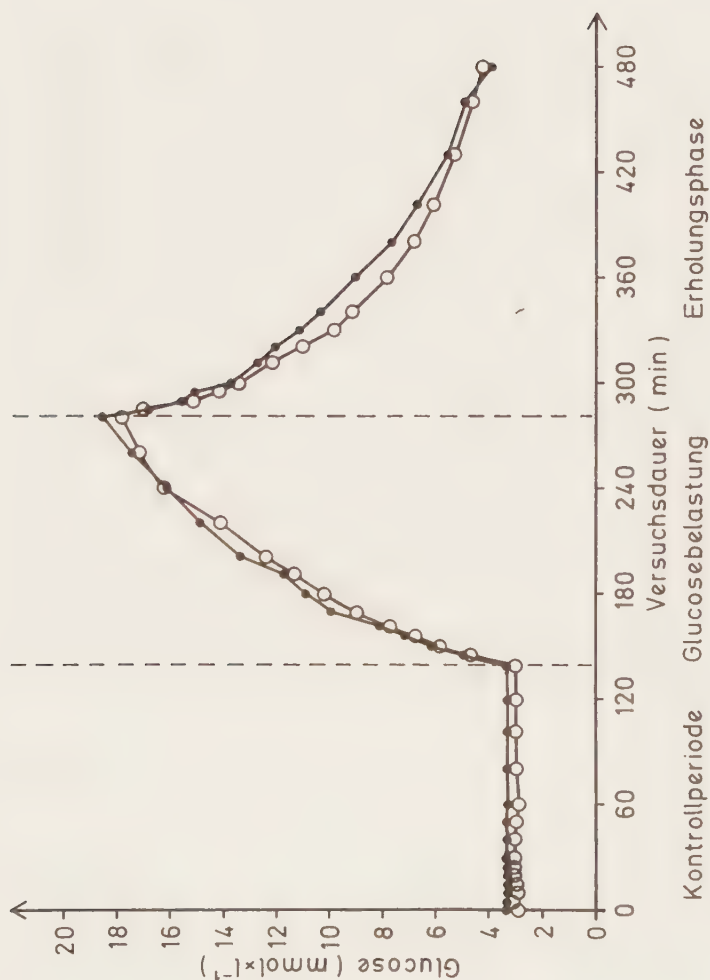


Abbildung 20: Mittlerer Konzentrationsverlauf von Glucose im Blutplasma vor, während und nach einer exogenen Glucosebelastung bei hungernden Zwergziegen ohne (V_{B-H} ; $n=4$) und mit Phlorizinvorbehandlung (V_{B-H+P} ; $n=4$)

3,04 mmol/l deutlich niedrigeren Blutglucosespiegel. Da mit der Phlorizinbehandlung ein zusätzlicher Varianzfaktor in die Versuche miteingeht, ist es nicht überraschend, daß die durchschnittliche individuelle Variabilität mit rund 10 % fast doppelt so hoch ist wie in den reinen Hungerversuchen.

Der asymptotische Anstieg der Glucosekonzentration während einer exogenen Glucosebelastung verläuft bei beiden Stoffwechselausgangslagen (V_{B-H} ; V_{B-H+P}) nahezu identisch. Die Niveauunterschiede, die in der Kontrollperiode bereits zutage traten, bleiben jedoch über die Glucosebelastungsphase hinaus erhalten (siehe Abbildung 20 und Tabelle A7). Dies deutet darauf hin, daß im Versuchsabschnitt 2 (Glucosebelastung) und 3 (Erholungsphase) - obwohl die letzte Phlorizinapplikation bereits 24 Stunden zurückliegt - immer noch eine renale Glucoseausscheidung stattfindet. Erst in der letzten Stunde der Erholungsphase zeigt sich eine Annäherung bzw. sogar eine Überschneidung der beiden mittleren Konzentrationskurven, so daß zu Beginn des Versuchsabschnittes 4 (Glucagonbehandlung) ein Glucosespiegel von 3,95 (V_{B-H}) bzw. 4,28 (V_{B-H+P}) mmol/l vorliegt.

Die individuelle Variabilität beim mittleren Glucosespiegel steigt im Versuchsabschnitt 2 kontinuierlich von 7 (V_{B-H}) bzw. 4 % (V_{B-H+P}) auf rund 20 bzw. 27 % an und erreicht in der nachfolgenden Erholungsphase im Mittel sogar das relativ hohe Niveau von rund 28 bzw. 34 %.

3.2.1.2 Auswirkung einer Glucagonbehandlung

Die Plasmaglucoseeinzelwerte während der intravenösen Glucagoninfusion bei hungernden Zwergziegen ohne und mit Phlorizinvorbehandlung sind Tabelle A8 zu entnehmen. In Abbildung 21 wird der Konzentrationsverlauf von Glucose im Blut in den letzten 260 Versuchsminuten am Beispiel der Zwergziege D dargestellt. Danach läßt sich das Verhalten

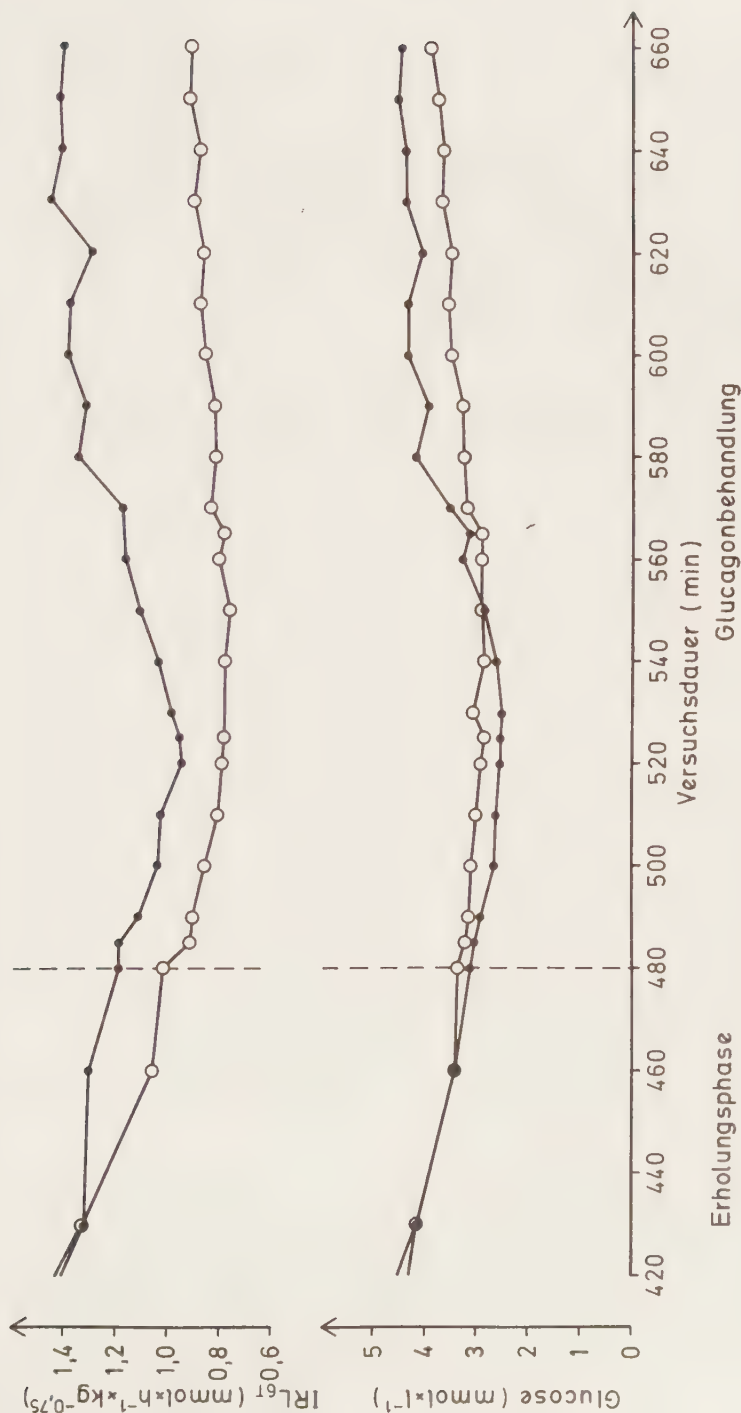


Abbildung 21: Verlauf der Glucosekonzentration im Blutplasma und des irreversiblen Verlustes von $[2-^3\text{H}]$ -Glucose vor (Erholungsphase) und während der Glucagonbehandlung am Beispiel der Zwergziege D
 ("hungernd" ● und "hungernd mit Phlorizinvorbehandlung" ○)

dieses Metaboliten unter Glucagonbehandlung wie folgt zusammenfassen:

In Analogie zum Versuchsabschnitt 4 der Versuchsreihe A ist während der ersten Behandlungsstunde ebenfalls ein fortgesetzter Glucosekonzentrationsabfall zu beobachten (V_{B-H} : Minimum von $2,78 \pm 0,22$ mmol/l zum Zeitpunkt $552,5 \pm 27,5$ min; V_{B-H+p} : Minimum von $3,03 \pm 0,73$ mmol/l zum Zeitpunkt $543,0 \pm 18,8$ min). Dies bedeutet eine Unterschreitung des Kontrollwertes (Versuchsabschnitt 1) um 16 % (V_{B-H}) bzw. ein Wiedererreichen der Ausgangskonzentration (V_{B-H+p}). Bemerkenswert erscheint, daß auch bei Versuchsende (660 min) der Glucosespiegel der phlorizinvorbehandelten Tiere eine im Mittel um 46 % geringere glucagoninduzierte Zunahme (auf 3,82 mmol/l) als in den reinen Hungerversuchen (auf 4,89 mmol/l) aufweist. Interessant ist weiterhin, daß sich während der letzten Stunde der Glucagonbehandlung ein Glucosekonzentrationsplateau ausbildet (siehe Tabelle A8). Möglicherweise ist dies auf die in den letzten beiden Behandlungsstunden unverändert beibehaltene Glucagoninfusionsrate zurückzuführen.

Die dem Konzentrationsverlauf von Glucose äquivalenten Glucosemengen sind in Tabelle 14 sowohl für eine Behandlungsdauer von 2 Stunden (für einen Vergleich mit Daten der Versuchsreihe A) wie auch von 3 Stunden wiedergegeben. Dabei fällt auf, daß die freigesetzten Glucosemengen bei den phlorizinvorbehandelten Tieren sowohl nach 2 Stunden wie auch nach 3 Stunden erheblich niedriger (um 2,66 mmol bzw. 6,60 mmol) ausfallen. Bei beiden Stoffwechselzuständen (V_{B-H} bzw. V_{B-H+p}) findet die massivste Glucosebereitstellung erst während der dritten Behandlungsstunde statt. Hier fallen im Mittel rund 68 (V_{B-H}) bzw. 73 % (V_{B-H+p}) der insgesamt freigesetzten Glucose an.

Vergleicht man die 2-Stunden-Werte der Versuchsreihe B mit denen der Versuchsreihe A (siehe Tabelle 4), so fällt auf, daß erstere um durchschnittlich 29 (V_{B-H}) bzw. 67 % (V_{B-H+p}) geringer ausfallen. Nach 3 Stunden Glucagonbehandlung wurde dagegen das 5,9-fache (V_{B-H}) bzw. 3,7-fache

(V_{B-H+p}) der in der Versuchsreihe A markierten Glucosemenge freigesetzt.

Die enorme Variabilität (Vk zwischen 7 und 143 %) bei den Mittelwertangaben in Tabelle 14 wird maßgeblich durch die besonders hohe Glucagonempfindlichkeit des Tieres F bestimmt. Anzufügen ist, daß dieses Versuchstier gegenüber den anderen (B, C, D) vor den Versuchen der Versuchsreihe B weitaus seltener mit exogenem Glucagon in Berührung kam. Möglicherweise spiegelt sich in dem in Tabelle 14 wiedergegebenen Verhaltensmuster der Glucosefreisetzung eine durch Antigenität bedingte "Minderempfindlichkeit" der "altgedienten" Versuchstiere (B, C, D) wieder.

3.2.2 Glucose- bzw. glucagoninduzierte Veränderungen im $[6-^3H]$ -spezifischen Glucoseumsatz

Für die in der Versuchsreihe B während der 4 Versuchsabschnitte erzielten Radioaktivitäts- und spezifischen Radioaktivitätswerte von $[6-^3H]$ -Glucose gelten die in Abbildung 6 und 11 dargestellten Verlaufskurven der Vollversuche V_A . Während der um eine Stunde verlängerten Glucagonbehandlungsperiode setzt sich lediglich der RA-Anstieg bzw. SA-Abfall weiter fort. Zahlenmäßige Angaben zur spezifischen Aktivität unter Glucagonbehandlung bei hungernden Zwergziegen ohne und mit Phlorizinvorbehandlung sind Tabelle A9 zu entnehmen. Daraus wird ersichtlich, daß der Zeitpunkt für V_{B-H} (im Mittel bei 533 min bzw. für V_{B-H+p} bei 554 min) der SA-Maximalwerte - wie in der Versuchsreihe A - sich ziemlich genau mit dem Beginn des glucagoninduzierten Plasmaglucoseanstieges (siehe Tabelle A8) deckt.

Die irreversiblen Verlustaten von $[6-^3H]$ -Glucose vor (Kontrollperiode) und während der Glucosebelastung sind in Tabelle 10 wiedergegeben. Die Hungerwerte der Kontrollperiode stimmen mit denen der Versuchsreihe A (siehe Tabelle 8) gut überein. Offensichtlich enthalten die

Tabelle 10: $[6-^3\text{H}]$ -Glucose-spezifischer metabolischer Glucosefluß vor (Versuchsabschnitt 1) und während einer i.v. Glucosedauerbelastung (Versuchsabschnitt 2) bei hungernden Zwergziegen ohne (H) und mit Phlorizinvorbehandlung (H+P)

Tier	Stoffwechsel- lage	Glucosebruttofluß	
		Kontrollperiode ($\text{mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-0,75}$)	Glucosebelastung
B	H	1,009	7,621 (0,170) ^{a)}
	H+P	1,005	7,489 (0,587) ^{a)}
C	H	0,919	5,388 (0,123)
	H+P	0,954	5,793 (0,441)
D	H	0,911	5,624 (0,107)
	H+P	0,995	5,941 (0,227)
F	H	0,858	6,000 (0,149)
	H+P	1,211	6,373 (0,353)
$\bar{x} \pm s$	H	0,924 $\pm$ 0,063	6,158 $\pm$ 1,007 (0,137 $\pm$ 0,028)
	H+P	1,041 $\pm$ 0,115	6,399 $\pm$ 0,767 (0,402 $\pm$ 0,151)

a) Glucosenettofluß (Bruttofluß - Glucoseinfusionsrate)

irreversiblen Verlustaten von $[6-^3\text{H}]$ -Glucose auch 20 Stunden nach der letzten Phlorizinbehandlung noch einen gewissen renalen Glucoseverlust. So liegen sie im Mittel mit $1,041 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-0,75}$ um rund 13 % über den reinen Hunger-Glucoseumsatzraten. Auch die Reprimierung des endogenen Glucoseumsatzes während der exogenen Glucosebelastung fällt im Mittel mit 57 % deutlich geringer aus als in den reinen Hungerversuchen. Bei letzteren beträgt sie 86 %.

Das Verhalten des über $[6-^3\text{H}]$ -Glucose ermittelten Glucoseumsatzes vor (Erholungsphase) und während der Glucagonbehandlung ist der Tabelle 11 zu entnehmen und am Beispiel der Zwergziege D in Abbildung 21 dargestellt. Dabei fällt auf, daß der Glucoseumsatz weit über den Beginn der Glucagoninfusion hinaus abfällt. Im Falle der Phlorizinvorbehandlung erhöht sich der Glucoseumsatz auch während fortgesetzter Glucagonbehandlung nur unwesentlich. Die beim Verlauf der Glucosekonzentration bereits festgestellte besonders intensive Glucagonempfindlichkeit des Versuchstieres F bzw. die relative Unempfindlichkeit der anderen Tiere zeigt sich auch beim $\text{IRL}_{6\text{T}}$ und zwar insbesondere darin, daß die Glucagonwirkung frühzeitiger ($\text{IRL}_{6\text{T}}$ -Abfall bereits bei 520 min beendet) einsetzt und sich auch im Verlauf der letzten beiden Glucagonbelastungsstunden deutlicher ausprägt.

3.2.3.1 ^{14}C -Transfer zwischen CO_2 und Glucose während einer exogenen Glucosebelastung

Angaben zum mittleren Verlauf der Radioaktivität (RA) und spezifischen Aktivität (SA) von $^{14}\text{CO}_2$ im Vollblut während der $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ -Dauerinfusion sind Tabelle 12 zu entnehmen. Danach stellt sich in der letzten Infusionsstunde (220 - 280 min) stets ein annähernd stabiles RA- und SA-Plateau ein. Auffallend ist, daß die nach Phlorizinvorbehandlung

Tabelle 11: Typische Merkmale des metabolischen Glucoseflusses (IRL_{GT}) zu Beginn ($t = 480$ min), während und am Ende ($t = 600$ bzw. 660 min) einer Glucagonbehandlung (Versuchsabschnitt 4) bei hungernden Zwergziegen ohne (H) und mit Phlorizinvorbehandlung (H+P)

Tier	Stoffwechsel- lage	IRL_{GT} ($t = 480$ min)		IRL_{GT} -Minimum (min)		IRL_{GT} -Maximum ($t = 600$ min) ($t = 660$ min)	
		H	H+P	H	H+P	H	H+P
B	H	1,542		1,129 (111,9) ^{a)}	540 ^{b)}	1,464	1,642
	H+P	1,526		0,944 (93,9) ^{a)}	565	1,107	1,267
C	H	1,269		0,889 (90,8)	540	1,013	1,188
	H+P	1,015		0,720 (87,3)	590	0,733	0,772
D	H	1,194		0,949 (85,2)	520	1,386	1,407
	H+P	1,026		0,873 (85,7)	550	0,969	1,014
F	H	1,002		0,800 (93,2)	520	1,367	1,478
	H+P	1,126		1,002 (98,1)	520	1,459	1,676
$\bar{x} \pm s$	H	1,252 $\pm$ 0,224		0,942 $\pm$ 0,139 (95,3 $\pm$ 11,6)	530 $\pm$ 12	1,307 $\pm$ 0,201	1,429 $\pm$ 0,188
	H+P	1,173 $\pm$ 0,240		0,885 $\pm$ 0,122 (91,3 $\pm$ 5,8)	556 $\pm$ 29	1,067 $\pm$ 0,303	1,182 $\pm$ 0,386

a) (%) des IRL_{GT} des Versuchsabschnitts 1 (Kontrollperiode)

b) Zeitpunkt (min) des IRL_{GT} -Minimums

gemessenen Plateauwerte mit 634,2 % D/l bzw. 0,309 % D/mmol um 5 bzw. 14 % unter den jeweiligen Gleichgewichtskonzentrationen der unbehandelten, hungernden Tiere (670,0 % D/l bzw. 0,361 % D/mmol) liegen. Die Variationskoeffizienten der im Plateaubereich berechneten Mittelwerte bewegen sich in einem Bereich von 14 bis 33 %. Entsprechend den Ausführungen im Abschnitt 3.1.3 zur Berechnung des Glucoseumsatzes (IRL) konnte auch der CO_2 -Turnover ermittelt werden. Dieser beträgt in den Phlorizinversuchen $24,55 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-0,75}$ (Vk 12,30 %) und liegt damit 15 % über dem bei hungernden Tieren gemessenen Wert ($21,29 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-0,75}$; Vk 19,30 %).

Die in den ersten 480 Minuten (Versuchsabschnitt 1 bis einschließlich Versuchsabschnitt 3) gemessenen RA-Werte von ^{14}C -Glucose sind in Tabelle A10 und Abbildung 22 wiedergegeben. Danach zeigen sich keine auffälligen Verlaufsunterschiede zwischen den beiden Stoffwechselzuständen ($V_{\text{B-H}}$ bzw. $V_{\text{B-H+P}}$). Allerdings fällt auf, daß bei phlorizinvorbehandelten Tieren, insbesondere während der ersten 120 Minuten, durchwegs etwas höhere ^{14}C -RA- und ^{14}C -SA-Werte im Blut gemessen werden.

Die im Versuchsabschnitt 2 bei Glucosebelastung beobachtete, zwar etwas abgeflachte, aber dennoch stetig ansteigende ^{14}C -Glucose-RA ist überraschend. Dieser Befund steht der Vorstellung entgegen, daß die reichliche Zufuhr von Extraglucose die endogene Gluconeogenese fast vollständig zu hemmen vermag. Ein allmählicher Abfall der ^{14}C -Glucose-RA erfolgt erst ab dem Zeitpunkt der Beendigung der $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ -Infusion. So ist auch bis zum Ende der Erholungsphase (480 min) die ^{14}C -Glucose-RA um 20 ($V_{\text{B-H}}$) bzw. 26 % ($V_{\text{B-H+P}}$) abgefallen.

Angaben zum ^{14}C -Transfer aus CO_2 in Glucose, ermittelt im Versuchsabschnitt 2, sind der Tabelle 13 zu entnehmen. Danach liegt der als Quotient aus den SA-Plateau des sekundären ^{14}C -Pools (= ^{14}C -Glucose) und dem SA-Plateau des

Tabelle 12: Mittlerer ($\bar{x} \pm s$) finaler Verlauf der Radioaktivität (RA) und der spezifischen Aktivität (SA) von $^{14}\text{CO}_2$ im Vollblut während einer i.v. $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ -Dauerinfusion (0-280 min) und einer i.v. Glucose-dauerbelastung (140-280 min) bei hungernden Zwergziegen ohne (H) und mit Phlorizinvorbehandlung (H+P)

Versuchszeit (min)	RA (% D/l)		SA (0,1 % D/mmol)	
	H	H+P	H	H+P
170	618,2 $\pm$ 120,5	640,6 $\pm$ 164,6	3,39 $\pm$ 0,93	2,86 $\pm$ 0,72
200	584,8 $\pm$ 76,5	609,6 $\pm$ 134,6	2,98 $\pm$ 0,56	3,14 $\pm$ 0,87
210	628,4 $\pm$ 180,0	629,8 $\pm$ 118,1	3,20 $\pm$ 0,77	3,12 $\pm$ 0,73
220	641,7 $\pm$ 157,0	651,5 $\pm$ 116,2	3,51 $\pm$ 1,01	3,11 $\pm$ 0,67
230	643,2 $\pm$ 137,8	632,7 $\pm$ 122,9	3,58 $\pm$ 1,08	3,06 $\pm$ 0,68
240	667,9 $\pm$ 220,2	630,4 $\pm$ 93,4	3,58 $\pm$ 0,95	3,08 $\pm$ 0,48
250	674,5 $\pm$ 224,0	643,2 $\pm$ 92,2	3,62 $\pm$ 1,04	3,14 $\pm$ 0,52
260	662,6 $\pm$ 210,1	623,7 $\pm$ 101,7	3,58 $\pm$ 1,01	3,22 $\pm$ 0,56
270	681,5 $\pm$ 195,6	639,0 $\pm$ 126,7	3,74 $\pm$ 1,19	3,10 $\pm$ 0,64
280	690,4 $\pm$ 187,7	636,0 $\pm$ 107,7	3,54 $\pm$ 1,01	2,94 $\pm$ 0,61
$\bar{x} \pm s$ (für 230- 280 min)	670,0 $\pm$ 16,4	634,2 $\pm$ 6,8	3,61 $\pm$ 0,07	3,09 $\pm$ 0,09

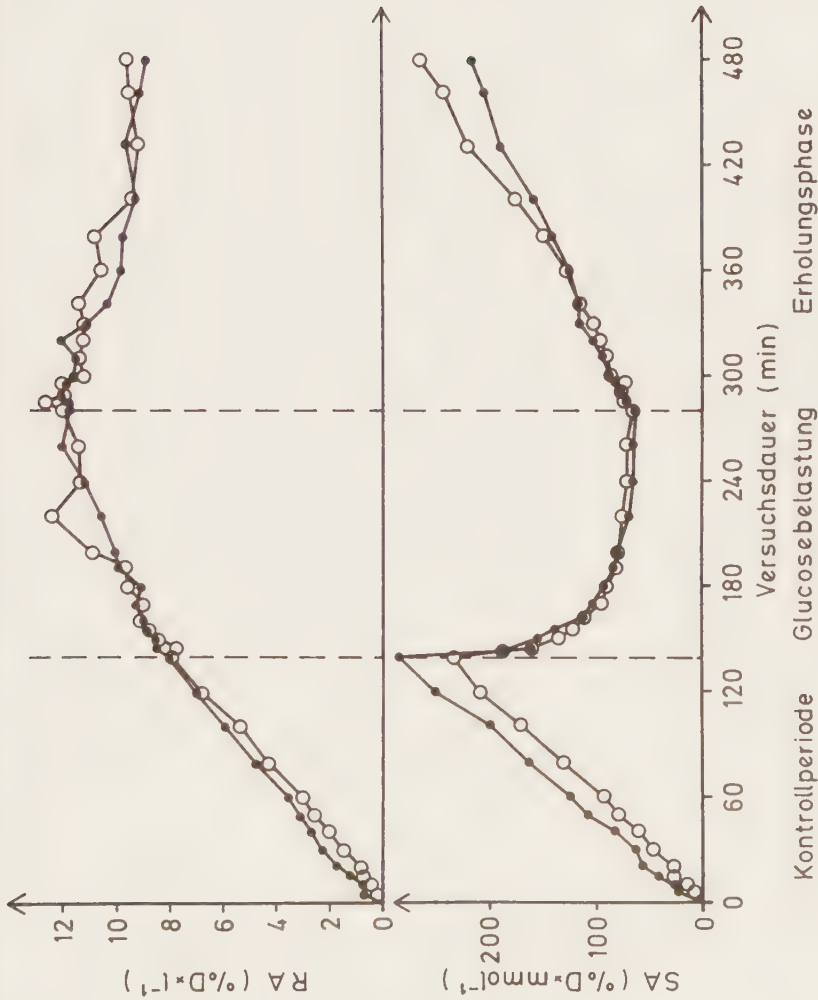


Abbildung 22: Mittlerer Verlauf der Radioaktivität (RA) und der spezifischen Radioaktivität (SA) von ¹⁴C-Glucose vor, während und nach einer exogenen Glucosebelastung bei hungernden Zwergzügen ohne (V_{B-H}; n=4) und mit Phlorizinvorbehandlung (V_{B-H+P}; n=4)

primären ^{14}C -Pools ($= ^{14}\text{CO}_2$) berechnete ^{14}C -Transfer im Mittel bei 16,19 ($V_{\text{B-H}}$) bzw. 22,33 % ($V_{\text{B-H+P}}$). Dieses Ergebnis bedeutet bei Phlorizinvorbehandlung eine Steigerung des Gluconeogeneseweges über Oxalacetat um durchschnittlich 38 %.

3.2.3.2 Glucagoninduzierte Veränderungen im Verlauf der ^{14}C -RA und ^{14}C -SA von Plasmaglukose

Im Versuchsabschnitt 4 (Glucagonbehandlung) konnte eine deutliche Zunahme der ^{14}C -Glucose-RA beobachtet werden (siehe Tabelle A11). Dabei können die nach Phlorizinapplikation (mit Ausnahme von Tier D) später gemessenen Maximalwerte und der nachfolgende geringere SA-Abfall von Plasmaglukose auf einen vergleichsweise reduzierten Plasmaglukoseanstieg zurückgeführt werden.

Wie Tabelle 14 zeigt wurde bei phlorizinvorbehandelten Tieren anhand der vom ^{14}C -Glucose-RA-Verlauf abgedeckten Fläche nach 2- bzw. 3-stündiger Glucagonbehandlung mit 2,59 bzw. 9,31 mmol ein im Mittel um 42 bzw. 21 % höherer ^{14}C -Glucoseanstieg als bei unbehandelten Tieren gemessen. Dabei liegen diese 2-Stunden-Ergebnisse durchschnittlich 41 ($V_{\text{B-H}}$) bzw. 16 % ($V_{\text{B-H+P}}$) unter den in den Vollversuchen der Versuchsreihe A anhand der ^{14}C -Glucosemobilisierung berechneten Glucosemengen. Bezieht man jedoch die erhaltenen Werte auf die insgesamt mobilisierten (über den Glucosekonzentrationsverlauf berechneten) Plasmaglukosemengen, so ergibt sich ein ganz anderes Bild: Der Anteil der anhand der ^{14}C -Glucosemobilisierung bestimmten Glucosemenge steigt bei Phlorizinvorbehandlung nach 3-stündiger Glucagoninfusion von 45 ($V_{\text{B-H}}$) auf 79 % ($V_{\text{B-H+P}}$) an. Setzt man voraus, daß durch die induzierte Glucosurie eine massivere Glykogenepletion als durch reines Hungern erzielt wurde und dementsprechend im Versuchsabschnitt 2

Tabelle 13: ^{14}C -Transfer aus CO_2 in Glucose im Versuchsabschnitt 2 (Glucosebelastung) bei hungernden Zwergziegen ohne (H) und mit Phlorizinbehandlung (H+P)

Tier	^{14}C -SA-Plateau ^{a)} CO_2		^{14}C -SA-Plateau ^{b)} Glucose		^{14}C -Transferquotient	
	H	H+P	H	H+P	H	H+P
	(0,1 % D/mmol)		(0,001 % D/mmol)		(%)	
B	5,05	3,76	56,82	66,59	11,25	17,71
C	3,66	2,75	62,82	67,25	17,25	19,80
D	2,74	2,54	52,34	69,50	19,11	27,36
F	2,99	3,15	51,60	62,36	17,16	24,45
$\bar{x}$	3,61	3,09	55,89	66,43	16,19	22,33
$\pm s$	1,04	0,68	5,16	2,98	3,41	4,38
Vk (%)	28,81	22,00	9,23	4,49	21,06	19,61

a) Berechnet aus den SA-Werten zwischen 230 und 280 min

b) Ermittelt durch Extrapolation (für $t = \infty$) der mathematisch beschriebenen und in Abbildung 22 für den Versuchsabschnitt 2 wiedergegebenen SA-Verlaufskurven

c) Berechnet als
$$\frac{{}^{14}\text{C-S-A-Plateau} \cdot 100}{{}^{14}\text{CO}_2\text{-SA-Plateau}}$$

und 3 mehr Glykogen repletiert wurde, dann läßt diese deutliche Zunahme der prozentualen ^{14}C -Glucosemobilisierung in den Phlorizinversuchen vermuten, daß ein erheblicher Teil des neu gebildeten Leberglykogens über den indirekten Weg der Gluconeogenese aus Glucosemetaboliten gelaufen sein mußte. Der deutlich höhere ^{14}C -Transferquotient bei phlorizinvorbehandelten Tieren (siehe Tabelle 13) - zu werten als Anzeichen eines gesteigerten gluconeogenetischen Stoffwechselweges - unterstützt diese Annahme.

Bemerkenswert ist die enorme individuelle Variabilität, insbesondere bei den nach Phlorizinvorbehandlung ermittelten, glucagoninduzierten ^{14}C -Glucose-RA-äquivalenten Glucosemengen (siehe Tabelle 14). Aufgrund der Tatsache, daß die in Tabelle 14 wiedergegebenen, relativen Angaben eine weit geringere Variabilität aufweisen, kann die Existenz einer bereits mehrfach angesprochenen, unterschiedlichen Glucagonempfindlichkeit nicht ausgeschlossen werden. Dieser Befund verdeutlicht zudem, daß jedes einzelne Tier in diesem vierten Versuchsabschnitt ein ähnliches Verhalten zeigt.

Tabelle 14: Vergleich der anhand des Konzentrationsverlaufes bzw. des ^{14}C -RA-Verlaufes von Plasmaglukose im Versuchsabschnitt 4 der Versuchsreihe B ermittelten glucagoninduzierten Glucosemobilisierung

Tier	mobilisierte Glucosemenge ermittelt anhand des Glucosekonzentrationsverlaufes bzw. des ^{14}C -Glucose-RA-Verlaufes ^{a)}			
	H	H+P	H	H+P
B	3,48 ^{b)} /13,73 ^{c)}	1,15/ 4,65	1,15 ^{b)} (33,05) ^{d)} /5,34 ^{c)} (38,89) ^{d)}	0,52(45,22)/ 3,25(72,04)
C	3,02 /11,92	0,78/ 7,55	0,54 (22,40) /2,16 (38,92)	0,58(73,65)/ 5,60(74,11)
D	7,63 /19,89	1,21/ 7,49	2,68 (35,12) /11,78 (59,22)	0,91(74,70)/ 6,50(86,83)
F	11,19 /27,46	11,54/26,71	2,91 (26,00) /11,38 (41,45)	11,38(41,45)/21,75(81,43)
$\bar{x}$	6,33 /18,25	3,67/11,60	1,82 (29,14) / 7,67 (44,62)	2,59(66,46)/ 9,31(78,60)
$\pm s$	3,85 / 7,02	5,25/10,16	1,16 (5,95) / 4,71 (9,81)	3,84(14,19)/ 8,42(6,80)

a) Berechnungsgrundlage: ^{14}C -Glucosefläche, extrazelluläres Glucoseverteilungsvolumen (17,4 % kg

LM), extrapolatorisch ermitteltes C-SA-Plateau im Versuchsabschnitt 2

b) mmol/2 h Glucagoninfusionsdauer

c) mmol/3 h Glucagoninfusionsdauer

d) (%) der zugehörigen über den Glucosekonzentrationsverlauf berechneten mobilisierten Glucosemenge

4 DISKUSSION

In den nachfolgenden Abschnitten sollen neben einer kritischen Beurteilung der Experimentalbedingungen (Stoffwechselzustand, Tracertechnik) vor allem zwei Themenbereiche ausführlich, d.h. in Anlehnung an den bisherigen Wissensstand und unter Berücksichtigung der eigenen Ergebnisse diskutiert werden. Dies sind einerseits die Auswirkungen einer exogenen Glucosebelastung, und zwar insbesondere auf den endogenen metabolischen Glucosefluß, sowie andererseits die Herkunft und der Umfang der Hyperglykämie während einer Glucagonbehandlung. Insbesondere die tracerkinetischen Ergebnisse beider Experimentalansätze sollten darüberhinaus auch Schlußfolgerungen bezüglich Ablauf und Umfang des bei Wiederkäuern noch weitgehend ungeklärten Vorganges der hepatogenen Glykogensynthese zulassen.

4.1 Beurteilung der katabolen Stoffwechselausgangslagen

Die Charakterisierung der beiden für die weiteren Belastungsversuche gewählten Stoffwechselausgangslagen (hungernd bzw. hungernd mit Phlorizinvorbehandlung) erfolgte durchweg anhand der Plasmaglukosekonzentration und einer differenzierten Quantifizierung des metabolischen Glucoseflusses. Im reinen Hungerzustand erfolgte sie darüberhinaus auch noch anhand des Insulinspiegels.

Die im Plasma von hungernden (66 - 72 h) Zwergziegen ermittelte Glukosekonzentration von durchschnittlich $3,38 \pm 0,03$ mmol/l (errechnet aus 22 Versuchen an 5 Tieren) sowie der Insulinbasalspiegel von $4,58 \pm 0,31$ mU/l (errechnet aus 14 Versuchen an 5 Tieren) entsprechen weitestgehend den bereits publizierten Vergleichswerten anderer Untersuchungen an diesem "Laborwiederkäuer" (u.a. PERUCHE, 1981; KLOE, 1983; STANGASSINGER, 1985 und 1986; BENDISCH, 1986;

SANDNER, 1986; RAINER, 1987). Eine Bewertung dieser an Zwergziegen ermittelten "Hungerergebnisse" im Vergleich mit anderen Wiederkäuern wurde ebenfalls in den zitierten Arbeiten bereits vorgenommen.

Der mäßige 10%-ige Abfall des Plasmaglucosespiegels nach einer mehrtägigen phlorizininduzierten Glucosurie im Mittel auf $3,04 \pm 0,07$ mmol/l (errechnet aus 4 Versuchen an 4 Tieren) scheint zu bestätigen, wie auch bereits schon von anderer Seite vermutet wurde (KRONFELD et al., 1971; STANGASSINGER, 1985), daß der Wiederkäuerorganismus im stark katabolen Stoffwechselzustand seinen metabolischen Glucoseverbrauch rasch und massiv einzuschränken vermag. Im vorliegenden Fall mag aber auch eine erhebliche Rolle gespielt haben, daß zum Zeitpunkt der Messung des Blutglucosespiegels die letzte Phlorizinapplikation bereits 20 Stunden zurücklag, so daß von einer bereits abgeklungenen, glucosuretischen Phlorizinwirkung während des Meßzeitraumes ausgegangen werden muß. Diese Vermutung wird durch zweierlei Fakten gestützt: Zum einen dadurch, daß bei anderen, ebenfalls mit Phlorizin behandelten Zwergziegen (und zwar im akuten Zustand der Glucosurie) (BENDISCH, 1986; STANGASSINGER, 1986; RAINER, 1986) in der Regel Glucosekonzentrationen gemessen wurden, die deutlich unter 3,0 mmol/l lagen; zum anderen durch die Befunde von YOUNG et al. (1974), die zeigen, daß die Glucoseexkretionsraten, deren Persistenz deutlich von der injizierten Phlorizindosis abhängt, nach 12 Stunden nahezu wieder auf Null abgefallen sind.

Vor- und Nachteile der hier verwendeten Tracer, deren Applikationstechnik sowie die Spezifität der präparativen Analytik von radioaktiv markierter Plasmaglucose wurde bereits anderweitig (STANGASSINGER, 1986) ausführlich diskutiert.

Aufgrund der Tatsache, daß innerhalb eines 10- bzw. 11-stündigen Versuchsablaufes 4 verschiedene Versuchsabschnitte mit einem jeweils andersgearteten, eigenständigen metabolischen Zustand (mit Übergangsphasen) unterzubringen waren, konnte innerhalb des jeweiligen Meßzeitraumes die Einstellung eines neuen Stoffwechselgleichgewichtes (steady state) für Glucose nicht erreicht werden. Deshalb mußten meistens, ausgehend von der mathematischen Formulierung des vorhandenen Ungleichgewichtes, Extrapolationen in Richtung des zu erwartenden Stoffwechselgleichgewichtes (z.B. bei der Glucosekonzentration oder dem RA-Verlauf) vorgenommen werden. Die bestmögliche Anpassung einer mathematischen Funktion an den jeweiligen, durch die Meßwerte vorgegebenen Verlauf galt in diesem Zusammenhang als erreicht, wenn bestimmte statistische Vorgabekriterien ($r > 0,999$; Residualfehler $< 5 \%$) erfüllt werden konnten. Dennoch lagen die über diese Funktionen extrapolatorisch ermittelten Glucoseumsatzraten (IRL_{6T} , IRL_{14}) für hungernde Zwergziegen 33 % (IRL_{6T}) und 40 % (IRL_{14})^C über den von anderen Autoren (STANGASSINGER, 1986; ^CSANDNER, 1987) an hungernden Zwergziegen ermittelten Umsatzraten. Ein Grund für diese höheren IRL-Raten besteht wahrscheinlich darin, daß die extrapolatorische SA-Plateau-Ermittlung einen größeren Fehler beinhaltet als die Plateauberechnung über den arithmetischen Mittelwert von gemessenen SA(t)-Werten, die nach entsprechend langer Versuchszeit (bis zu 6 Stunden) aus dem asymptotisch verflachten SA-Endverlauf entnommen wurden. Die vergleichsweise hohe Variabilität der IRL-Werte von im Mittel 10 % (bei STANGASSINGER, 1986, lag sie für hungernde Zwergziegen zwischen 4 - 6 %) muß ebenfalls im Zusammenhang mit statistischen Fehlern bei der Kurvenanpassung und der nachfolgenden Extrapolation gesehen werden. Das unter Hungerbedingungen gemessene Lactat/Alanin-Recycling von $0,056 \pm 0,036 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-0,75}$ unterscheidet sich gegenüber anderen Messungen (z.B. bei STANGASSINGER, 1986, $0,069 \pm 0,009 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-0,75}$) hingegen nicht wesentlich.

Der irreversible Glucoseverlust phlorizinvorbehandelter, hungernder Zwergziegen liegt in der vorliegenden Untersuchung im Mittel bei $1,041 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-0,75}$ und ist damit um 13 % höher als die bei unbehandelten, hungernden Tieren gemessenen Turnoverrate. Daß eine mehrtägige Phlorizinbelastung auch beim Wiederkäuer die Glucoseneusynthese- und Gluconeogeneserate über den Wert unbehandelter Tiere hinaus anzuheben vermag, wurde u.a. auch von EGAN et al., 1983, YOUNG et al., 1984, und MILLS et al., 1984, an gefütterten Schafen und Jungbullen sowie von STANGASSINGER, 1986, an hungernden Zwergziegen beobachtet. So ergaben Glucoseumsatzmessungen an phlorizinvorbehandelten Bullen (LYLE et al., 1984), daß der Glucoseumsatz bei gefütterten Tieren tatsächlich um den Betrag des renalen Glucoseverlustes ansteigt.

STANGASSINGER (1986) stellte dagegen fest, daß bei phlorizinvorbehandelten, hungernden Zwergziegen der zu messende irreversible Glucoseverlust nicht der Summe aus dem irreversiblen metabolischen Verlust hungernder Tiere und dem phlorizinbedingten renalen Glucoseverlust entspricht. Er fällt deutlich geringer aus und zwar deshalb, weil Mechanismen, die bei phlorizinvorbehandelten, gefütterten Tieren wirksam geworden sein könnten, so z.B. eine effizientere Nutzung der vorhandenen exogenen Glucosevorstufen und/oder eine zusätzliche bzw. effizientere Nutzung endogener Substrate, im Hungerzustand bereits strapaziert sind und nicht mehr in dem Umfange genutzt werden können, wie für eine vollständige Kompensation des renalen Glucoseverlustes notwendig wäre.

Als Konsequenz bleibt nur eine mehr oder minder umfangreiche Einschränkung des irreversiblen metabolischen Glucoseverlustes. Ob dies auch in der vorliegenden Untersuchung eingetreten ist, läßt sich nicht feststellen, da keine gleichzeitigen Messungen des renalen Glucoseverlustes erfolgten. Sehr wahrscheinlich ist eine derartige umfangreiche zusätzliche Einschränkung der metabolischen Glucoseverwertung jedoch nicht, da der renale Glucoseverlust 20

Stunden nach der letzten Phlorizininjektion, wie die Untersuchungen von YOUNG et al. (1974) zeigen, nicht mehr groß sein dürfte.

Daß diese Vermutung einer bereits weitgehend abgeklungenen Phlorizinwirkung durchaus naheliegt, zeigt auch der bereits erwähnte geringe Unterschied (10 %) im Glucosespiegel von phlorizinbehandelten gegenüber unbehandelten, hungernden Tieren. Bei Untersuchungen anderer Autoren (STANGASSINGER, 1986; BENDISCH, 1986; RAINER, 1986) an Zwergziegen betrug diese Glucosekonzentrationsabnahme immerhin mehr als 20 %. Insgesamt gesehen kann aber davon ausgegangen werden, daß es mittels der zusätzlichen Phlorizinbehandlung gelungen war, die katabole Stoffwechselausgangslage so zu verschärfen, daß die Leber eine erhöhte Glucoseaufnahme (Glykogenrepletion) bei exogener Glucosebelastung zeigen mußte.

4.2 Zu den metabolischen Auswirkungen einer exogenen Glucosebelastung

Mit Hilfe einer hochdosierten, mit $[U-^{14}C]$ -Glucose markierten Glucosedauerinfusion sollte einerseits die endogene Glucoseverfügbarkeit rasch gesteigert werden, um eine möglichst umfangreiche Repletion der durch Hunger bzw. durch Hunger und Glucosurie depletierten Glykogenspeicher zu erreichen. Andererseits sollte gleichzeitig das neu gebildete Glykogen mit Hilfe des ^{14}C -Tracers in Relation zur vorhandenen ^{14}C -SA von Glucose im Blut markiert werden. Was den Konzentrationsverlauf von Plasmaglucose bei einer exogenen Glucosebelastung von über $6 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-0,75}$ (entspricht mehr als dem 6-fachen des hier bei hungernden Ziegen gemessenen endogenen Glucoseumsatzes) betrifft, so finden sich hierfür nur Vergleichswerte, die an gefütterten Zwergziegen und Schafen gewonnen wurden (KLOE, 1983). Trotz eines vorausgegangenen Glucosetoleranztests und einer wesentlich längeren Dauer der Glucoseinfusion (6 h) lag das

dort beobachtete Glucoseniveau im Plasma bei ähnlicher Infusionsdosis etwa 17 % unter den in der vorliegenden Untersuchung erzielten Maximalwerten. Als Ursache muß die bei hungernden Tieren beobachtete Glucoseintoleranz (KLOE, 1983; SANDNER, 1987) gewertet werden, die sowohl durch eine herabgesetzte β -Zéllempfindlichkeit des Pankreas für Glucose wie auch durch eine periphere Insulin-Resistenz verursacht werden kann (STANGASSINGER, 1983). Unterstützung findet diese Annahme in dem vergleichsweise (siehe SANDNER, 1987) niedrigen insulinogenen Index und der langsamen Glucoseelimination ($T_{1/2}$ 105 min) nach Beendigung der Glucosedauerinfusion.

Sogar eine 200-minütige Erholungsphase reichte in der vorliegenden Untersuchung nicht aus, um die erhöhten Glucoseblutspiegel wieder zu normalisieren. Die am Ende der Erholungsphase gemessenen Glucose- sowie Insulinwerte liegen im Mittel rund 1,5 mmol/l (45 %) bzw. 24 mU/l (367%) über dem Ausgangsniveau der Kontrollperiode. Betrachtet man die Auswirkungen der exogenen Glucosebelastung auf die endogene Glucoseproduktion und das Glucose-Recycling, so fällt auf, daß die unter Hungerbedingungen gemessenen Bruttoglucoseflüsse nicht der Summe aus endogenem Glucosefluß und der jeweiligen Infusionsrate entsprechen, sondern deutlich darunter liegen. Offensichtlich erfuhr die endogene Glucoseproduktion mit nur noch $0,164 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-0,75}$ eine erhebliche Reprimierung. Sie liegt im Mittel bei 80-85 %. Zudem kommt das Lactat/Alanin-Recycling mit $0,046 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-0,75}$ fast vollständig zum Erliegen. Überraschend ist, daß nach zusätzlicher phlorizininduzierter Glucosurie die endogene Glucoseproduktion im Mittel nur noch um 57 % und zwar auf $0,402 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-0,75}$ gesenkt wird. Vom Effekt her gesehen decken sich die nach exogener Glucosezufuhr vorliegenden Befunde mit den Ergebnissen anderer Isotopenstudien an verschiedenen Wiederkäuern. Diese haben nämlich übereinstimmend ergeben, daß eine Glucosedauerinfusion die endogene Glucoseproduktion auffällig erniedrigt. So wurde eine Reprimierung bis zu 80 %

bei laktierenden Kühen (BAIRD et al., 1980), trächtigen Schafen (PRIOR & CHRISTENSON, 1978), hungernden Schafen (WEST & PASSEY, 1967), hungernden, laktierenden Ziegen (CHAIYABUTR et al., 1983) und hungernden Zwergziegen (STANGASSINGER, 1986) ermittelt.

Angesichts dieses Kenntnisstandes überraschen die in der vorliegenden Untersuchung gemachten Beobachtungen zu Verlauf und Höhe der ^{14}C -Glucoseaktivität während und nach einer Nah $^{14}\text{CO}_3$ -Dauerinfusion. So erfolgte trotz Zufuhr von Extraglucose eine beachtliche nichtsynthetische $^{14}\text{CO}_2$ -Fixierung im Oxalacetat, und zwar wahrscheinlich ausschließlich unter Beteiligung der Pyruvat-Carboxylase bei gleichzeitiger, rascher Fumarase-Äquilibrierung (siehe BROSNAN, 1982). Unter den gegebenen Hungerbedingungen erscheint ein Weg über die Propionylcarboxylase (erniedrigte Aktivität) ebenfalls bei gleichzeitig rascher Fumarase-Äquilibrierung von untergeordneter Bedeutung. Die über den ^{14}C -SA-Quotienten berechnete Kohlenstofftransferrate zwischen CO_2 und Glucose (unter der Annahme des Einbaus von je einem Molekül in ein Molekül neu synthetisierter Glucose) liegt hierbei in einem Bereich von 16 % (hungernd) bzw. 22 % (hungernd und phlorizinvorbehandelt). Die höhere Kohlenstoffinkorporation in Glucose im stärker katabolen Stoffwechselzustand entspricht den Erwartungen. So berichteten z.B. SHIPLEY und GIBBON (1975) von einer höheren ^{14}C -Inkorporationsrate bei hungernden im Vergleich zu gefütterten Ratten.

Interessant ist, daß bei einer Untersuchung von EGAN et al. (1983) an gefütterten bzw. gefütterten und phlorizinbehandelten Schafen kein erkennbarer Unterschied im Kohlenstofftransfer bei den beiden Behandlungen bestand. Die Werte lagen hier mit 14 bis 19 % sogar teilweise unter denen der vorliegenden Untersuchungen, obwohl bei letzteren von einer Hemmung der Gluconeogenese durch eine exogene Glucosezufuhr auszugehen war. Eine verminderte ^{14}C -Inkorporation aus CO_2 in Glucose konnte nämlich an mit Glucose belasteten,

gefütterten Ratten demonstriert werden (SHIKAMA und UI, 1978). Bei hungernden Ratten (SHIKAMA und UI, 1973) war dagegen durch eine Glucosebelastung keine signifikante Veränderung im Verlauf der ^{14}C -SA von Glucose aus $^{14}\text{CO}_2$ zu erzielen.

Diese Beobachtungen unterstützen die von STANGASSINGER und GIESECKE (1986) dargelegte Auffassung, daß bei exogener Glucosezufuhr eine Verminderung der hepatischen Glucoseabgabe an das Blut stattfindet und zwar nicht, wie bisher immer vermutet, über eine Reprimierung der endogenen Gluconeogenese, sondern durch einen verstärkten Abzug des synthetisierten Glucose-6-Phosphats in das Leberglykogen. Diese Umorientierung des gluconeogenetischen Glucoseflusses in der Leber in Richtung Glykogenese durch eine glucoseinduzierte Aktivierung der Glykogensynthese ("pull mechanism" HERS, 1976) und eine mögliche allosterische Hemmung der Glucose-6-Phosphatase (SHIKAMA und UI, 1978) würde zu einer Verminderung der hepatischen Glucoseabgabe bei gleichzeitiger Förderung der Nettoaufnahme von Glucose in der Leber führen. Ein derartiger Vorgang vermag außerdem die vorliegende, fast 100 %-ige Reduzierung des im Blut gemessenen Lactat/Alanin-Recyclings erklären, und zwar durch eine gluconeogenetische Fixierung von C_3 -Metaboliten im Leberglykogen (siehe KATZ et al., 1986). Die bisher stets postulierte Hemmung der endogenen Glucoseproduktion durch Extraglucose fände demnach erst dann statt, wenn die Glykogenspeicher bereits aufgefüllt sind (z.B. bei gefütterten Tieren) und sich Glucose-6-Phosphat in der Leber anhäuft.

Welche Rolle dem erhöhten Insulinspiegel (bzw. in der vorliegenden Untersuchung einem Insulinanstieg) bei der reprimierenden Wirkung einer Glucosebelastung auf die endogene Glucoseproduktion zukommt, ist noch unklar. Untersuchungen, die eine Kontrolle der Gluconeogenese durch Insulin auf enzymatischer Ebene demonstrieren konnten (u.a. EXTON, 1972; MATSUMURA et al., 1975), unterstützen die

Annahme, daß Insulin den inhibierenden Effekt vermittelt. Andererseits zeigten Versuche an der perfundierten Rattenleber (RUDERMAN und HERRERA, 1968), daß Glucose auch in Abwesenheit von Insulin die Glucoseabgabe der Leber zu hemmen vermag.

Die Abnahme der erhöhten Glucoseverfügbarkeit nach Beendigung der exogenen Glucosebelastung (Erholungsphase) führte in der vorliegenden Untersuchung, individuell verschieden, nach durchschnittlich rund 3 Stunden zu einer allmählichen Normalisierung des im Blut meßbaren Glucoseumsatzes.

Die überraschend einsetzende Störung (Abnahme) im plateauartigen Verlauf der ^3H -Glucose-RA im Blut ausschließlich glucosebehandelter Tiere im letzten Drittel dieser Erholungsphase läßt sich nur erklären, wenn man davon ausgeht, daß folgende Veränderungen im Glucosestoffwechsel eingetreten sind: Zum einen müßte durch eine Aufhebung der vorher diskutierten, hungerinduzierten Insulinresistenz glucoseabhängiger Gewebe eine weitere Steigerung des glykolytischen Abbaus der noch reichlich vorhandenen Glucose stattgefunden haben. Zum anderen müßte annähernd gleichzeitig eine Aufhebung der Hemmung der hepatogenen Glucoseabgabe an das Blut stattgefunden haben, so daß dieses "Mehr" an glykolytischen Glucosemetaboliten in Form eines zunächst überschießenden gluconeogenetischen Recycling wieder in die Blutglucose einfließen kann. Entsprechen sich die beiden entgegengerichteten Vorgänge mengenmäßig, dann dürfte nur die ^3H -Glc-Radioaktivität selektiv abnehmen (ausführliche Erläuterungen zum metabolischen Schicksal von ^3H in Position 6 des Glucosemoleküls siehe bei STANGASSINGER, 1986). Eine "Normalisierung" im Umfang dieses Recycling müßte dann wiederum zeitlich vor der "Normalisierung" der gesteigerten Glykolyse stattgefunden haben, damit die vorübergehende (überschießende) Abnahme des Blutglucosespiegels, und zwar über die hungertypischen Kontrollwerte hinaus, erklärt werden könnte. Erst ungefähr 1,5 Stunden ($\text{K}_{\text{A}2}$ -Versuche) bzw. 1 Stunde (bei Glucagonbehandlung V_{A} ,-

K_{A1}- und V_B-Versuche) später findet mit dem Erreichen bzw. teilweise sogar Unterschreiten der Glucoseausgangswerte auch wieder eine Normalisierung der Blutglucose statt.

Die Möglichkeit der Existenz einer glucoseinduzierten Reprimierung der hepatogenen Glucosefreisetzung ohne eine Hemmung des gluconeogenetischen Stoffwechselablaufes z.B. für die Glykogensynthese wird durch das von JUNGERMANN (1982 und 1985) vorgeschlagene Modell der "Metabolischen Zonierung" des Leberparenchyms unterstützt. Danach unterscheiden sich die periportale (afferente) und perivenöse (efferente) Zone des Leberparenchyms in ihrer Ausstattung mit Enzymen und subzellulären Strukturen. Unter der Annahme, daß die Aktivitäten von Schlüsselenzymen ein Maß für Stoffwechselkapazitäten darstellen, wurden schließlich auch unterschiedliche Stoffwechselfunktionen für die beiden Zonen vorgeschlagen.

Danach sind die periportal (afferenten) Hepatozyten u.a. bevorzugt zur gluconeogenetischen und glykolytischen Glucosebereitstellung befähigt. Umgekehrt ist in den perivenösen (efferenten) Hepatozyten vor allem die Glucoseaufnahme mit nachfolgender Glykogensynthese, Glykolyse und Lipogenese lokalisiert. In den letzten Jahren wurde das Modell auch durch Messungen zentraler Unterschiede im Substratflux bestätigt, welche aufgrund der Verteilung von Enzymen und Metaboliten sowohl in vivo (JUNGERMANN et al., 1982) wie auch in periportal und perivenösen Zellen nach Induktion in Zellkulturen (PROBST, SCHWARTZ und JUNGERMANN, 1982) und durch nicht-invasive Methoden in der perfundierten Leber bestimmt werden konnten (MATSUMURA und THURMAN, 1984).

4.3 Zur hyperglykämischen Wirkung des Glucagons

Betrachtet man den Verlauf der Blutglucose, so lassen sich bei beiden Stoffwechselausgangslagen (hungernd bzw. hungernd und phlorizinvorbehandelt) während der Glucagonbehandlung je nach Infusionsdauer zwei bzw. drei verschiedene Stadien unterscheiden:

- ein fortgesetzter Abfall des bei Behandlungsbeginn ($t = 480$ min) noch überhöhten Glucosespiegels auf einen Minimalwert, der geringfügig (-8%) unter dem Ausgangsniveau (Werte der Kontrollperiode) liegt,
- ein allmählicher Anstieg während der zweiten Infusionsstunde auf ein Niveau, das bei V_{B-H} bzw. V_{B-H+p} im Mittel um 29% über dem Wert der Kontrollperiode liegt,
- eine Abflachung des Anstiegs während der dritten Behandlungsstunde.

Wahrscheinlich ist der im Versuchsabschnitt 4 anfänglich (während der niedrigsten Glucagonbelastung) noch zu beobachtende fortgesetzte Glucoseabfall auf den noch deutlich überhöhten Insulinspiegel zurückzuführen. Dies bedeutet, daß der molare Insulin/Glucagon-Quotient in dieser frühen Phase der Glucagonzufuhr offensichtlich immer noch zu hoch ist, um die Glucoseutilisierung zurückzudrängen und eine Steigerung der Glucoseproduktion (über Glykogenolyse) zu ermöglichen. Die Bedeutung von Insulin/Glucagon-Interaktionen bei der Kontrolle von Glucoseflüssen wurde bei Monogastriern ausführlich studiert, so z.B. in der postabsorptiven Phase (LICKLEY et al., 1979), während körperlicher Tätigkeit (ISSEKUTZ und VRANIC, 1980) und während der Infusion von Glucose (ISHIWATA et al., 1969). Dabei war es zum Teil auch möglich, eine signifikante Korrelation zwischen der Glucoseproduktionsrate und dem molaren Quotienten der beiden Hormone in vivo (UNGER, 1971) und in vitro (PARILLA et al., 1974) zu demonstrieren.

Zudem konnte wiederholt gezeigt werden, daß Insulin eine durch Glucagonzufuhr stimulierte Glykogenolyse und Gluconeogenese nur dann zu inhibieren vermag (z.B. EXTON et al., 1951; MACKRELL and SOKAL, 1969), wenn Glucagon nicht in hohen Dosen verabreicht wird.

In der vorliegenden Untersuchung wurde der Quotient von Insulin und Glucagon nicht ermittelt. Aus der Untersuchung von SANDNER (1987) ist aber bekannt, daß er bei gefütterten oder hungernden Zwergziegen mit einem irreversiblen metabolischen Glucoseverlust von 0,80 oder 0,54 $\text{mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-0,75}$ bei rund 6,0 oder 0,7 liegt.

Eine gewisse Bestätigung erfährt die oben geäußerte Vermutung eines anfangs noch zu hohen Insulin/Glucose-Quotienten durch die Ergebnisse der Kontrollversuche K_{A1} (ohne Glucosebelastung). Denn hier bei den hungertypisch niedrigen Insulinspiegeln zu Beginn des Versuchsabschnittes 4 existiert keine initiale Glucoseabnahme und der glucagoninduzierte Glucoseanstieg beginnt zum Zeitpunkt 497,5 min und damit bereits 30 Minuten früher als in den Vollversuchen. Ob sich jedoch aus diesen Kontrollversuchen eine Aussage über die Glucagonempfindlichkeit der Tiere ableiten läßt, ist fraglich, denn in diesem Stoffwechselzustand ist der Organismus bereits bei niedrig gehaltener Glucoseutilisierung vorwiegend auf eine Glykogenolyse und eine gesteigerte Gluconeogenese aus endogenen Vorstufen eingestellt. Aus einer Untersuchung von BASSETT (1971) an "nüchternen" Schafen geht jedoch hervor, daß bei einer Glucagoninfusionsrate von $2 \text{ ng} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ signifikante Veränderungen in der Blutglucosekonzentration auftreten. BASSETT schließt daraus, daß das Schaf gegenüber der glykogenolytischen Wirkung von Glucagon mindestens ebenso empfindlich wie Hund und Mensch ist.

Die Abflachung der Glucosezunahme am Ende der 3-stündigen Glucagonbehandlungsphase beruht wahrscheinlich auf der Tatsache, daß nach 2-maliger Steigerung der Infusionsrate von 12 auf 24 und dann auf $36 \text{ ng} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ (zum Zeitpunkt 520 und 560 min) keine weitere Erhöhung der Glucagonbe-

lastung mehr erfolgte. Hier bestätigt sich offensichtlich die von BROCKMANN (1986) geäußerte Annahme, daß im Hinblick auf eine Stimulierung der Glucoseproduktion einer Änderung der Glucagonkonzentration eine wesentlich größere Bedeutung als dem absoluten Niveau des Glucagonspiegels zukommt.

Die Insulinkonzentration im Versuchsabschnitt 4 reagiert im Mittel um 5-10 Minuten früher mit einem Anstieg als der Glucosespiegel. Diese Beobachtung läßt vermuten, daß die gesteigerte Insulinausschüttung direkt auf das exogene Glucagon und nicht auf die von ihm induzierte Hyperglykämie zurückzuführen ist. Ein derartiger Zusammenhang gilt inzwischen auch beim Wiederkäuer als gesichert (BROCKMANN, 1986).

Die unter Glucagonbehandlung mobilisierten mittleren Glucosemengen sind in Tabelle 15 nochmals vergleichend gegenübergestellt. Dabei fällt zunächst die enorme Variationsbreite bei den Absolutwerten auf. Ursächlich hierfür dürfte u.a. die zu unterschiedlichen Zeitpunkten einsetzende, als Hyperglykämie sichtbar werdende Glucagonwirkung sein. So schwankt der Zeitpunkt des Glucoseanstieges zwischen 500 Minuten (Tier C, Versuchsreihe B) einerseits und 570 Minuten (Tier F, Versuchsreihe B) andererseits. Dies bedeutet, daß Abweichungen in der Stoffwechselausgangslage zu Beginn der Glucagoninfusion sowie Unterschiede in der Glucagonempfindlichkeit der Leber bei den einzelnen Versuchstieren maßgeblich zu diesen beachtlichen Variationskoeffizienten beigetragen haben.

Daß bei der Glucagonbehandlung zwischen den einzelnen Tieren nur quantitative und keine qualitativen Unterschiede auftreten, unterstützt die Annahme eines bei allen Tieren identischen metabolischen Verhaltensmusters. Ein gewisser Beleg hierfür sind auch die vergleichsweise kleinen Variationskoeffizienten bei den in Tabelle 15 wiedergegebenen relativen Angaben.

Tabelle 15: Vergleich der durch eine Glucagonbehandlung mobilisierbaren, mittleren Glucosemengen bei Zwergziegen mit unterschiedlicher Stoffwechsellage

Stoffwechselzustand	Glucagon-behandlungsdauer (h)	mobilisierte Glucose ermittelt über den ^{14}C -Glc-RA-Verlauf ^{b)}		
		Glc-Konzentrationsverlauf ^{a)}	absolut (mmol)	relativ (%) ^{c)}
Versuchsreihe A ($[\text{U-}^{14}\text{C}]\text{-Glc-Inf.}$):				
H (n = 5) ^{d)}	2	8,99 $\pm$ 3,68 (40,9) ^{f)}	3,09 $\pm$ 1,57 (50,8) ^{f)}	33,1 $\pm$ 6,23 (18,8) ^{f)}
H (n = 4) ^{e)}	2	9,76 $\pm$ 3,34 (34,2)	0,42 $\pm$ 0,21 (50,0)	4,2 $\pm$ 1,53 (36,2)
Versuchsreihe B ($\text{NaH}^{14}\text{CO}_3\text{-Inf.}$):				
H (n = 4)	2	6,33 $\pm$ 3,85 (60,8)	1,82 $\pm$ 1,19 (63,7)	29,1 $\pm$ 5,9 (20,4)
H+P (n = 4)	2	3,67 $\pm$ 5,25(143,1)	2,59 $\pm$ 3,84 (148,3)	66,5 $\pm$ 14,2 (21,3)
H (n = 4)	3	18,25 $\pm$ 7,02 (38,5)	7,67 $\pm$ 4,71 (61,4)	44,6 $\pm$ 9,8 (22,0)
H+P (n = 4)	3	11,60 $\pm$ 10,16 (87,6)	9,31 $\pm$ 8,42 (90,4)	78,6 $\pm$ 6,8 (8,7)

a) errechnet mit Hilfe der vom Glc-Konzentrationsverlauf abgegrenzten Fläche und dem Faktor 17,4

(= extrazelluläres Glucoseverteilungsvolumen bei hungernden Zwergziegen in % kg LM)

b) errechnet mit Hilfe der vom ^{14}C -Glc-RA-Verlauf abgegrenzten Fläche, dem Faktor 17,4 und dem im Verlauf der Glucosebehandlung auftretenden ^{14}C -Glc-Sa-Plateau

c) % anhand des Glucosekonzentrationsverlaufes (a) ermittelten Glucosemenge

d) Versuche V_A

e) Versuche V_{kA1}

f) V_k (%)

Bei Betrachtung der in Tabelle 15 angegebenen Werte fällt außerdem die deutliche Verringerung der innerhalb von 2 Stunden mobilisierten Plasmaglucosemengen (im Mittel bei V_{B-H} um 30 % bzw. bei V_{B-H+P} um 59 %) in der Versuchsreihe B auf. Der spätere Anstieg und der flachere Verlauf von Glucose bzw. der ^{14}C -Glc-RA im Plasma, die hierfür ursächlich sind, könnten, wie im Ergebnisteil bereits angesprochen, auch durch die Ausbildung einer Glucagonteilimmunität zustande gekommen sein. Gesetzt den Fall, daß das verwendete humane Glucagon vom Immunsystem der Versuchstiere als artfremdes Protein erkannt wurde, dann könnte im Verlauf der Versuche (mindestens 5 pro Tier) eine mehr oder weniger ausgeprägte Antikörperbildung stattgefunden haben, die bei den zeitlich später durchgeführten Versuchen der Reihe B zur Wirkung kommen konnte. Bei den verschiedenen in der Literatur erwähnten Studien mit einer mehrstündigen Glucagondauerbehandlung wurde entweder immer wieder auf neue Versuchstiere zurückgegriffen (z.B. bei Versuchen an Ratten) oder es wurde als Versuchsobjekt der Mensch eingesetzt. Ziegenspezifisches Glucagon war für die hier durchgeführten Versuche nicht erhältlich und über die Antigenität des humanen Glucagons bei Ziegen ist nichts bekannt.

Der Einsatz einer Glucagonbehandlung nach exogener Glucosebelastung, um das zuletzt aus der exogen zugeführten Glucose synthetisierte Leberglykogen wieder zu mobilisieren, beruht auf der Annahme, daß die beim Monogastrier angestellten Beobachtungen auch auf den Wiederkäuerorganismus übertragen werden können. So konnten PLAS und NUNEZ (1975) an fetalen Rattenhepatozyten in vitro, DEVOS und HERS (1979) an Mäusen und Ratten in vivo sowie RADZUIK et al. (1979) am Hund in vivo zeigen, daß das zuerst gebildete Glykogen als letztes wieder abgebaut wird. Dies bedeutet: erfolgt auch nur eine partielle Leberglykogenneubildung aus der zugeführten ^{14}C -markierten Extraglucose (z.B. wegen unvollständig entleerter Glykogendepots), so muß die durch die Glucagonbehandlung freigesetzte Glucose zu einem guten

Teil radioaktiv markiert sein. Zur Illustration dieser Feststellung sei auf die Versuche von RADZUIK (1981) verwiesen. Dort wurde bei fastenden Hunden nach einer 140-minütigen ^{14}C -markierten Glucoseinfusion (250 mg/min) ein Anstieg des Glykogengehalts von 70 auf 95 mg/g Lebergewebe festgestellt. 82 % des ^{14}C -markierten Glykogens wurden während einer nachfolgenden Glucagoninfusion in Form von ^{14}C -Glucose wieder an das Blut abgegeben. Der Leberglykogengehalt sank auf 60 mg/g Lebergewebe.

Nach BROCKMANN (1983) stellt Glucagon auch beim Wiederkäuer ein Stoffwechselhormon mit hyperglykämischer Wirkung dar, welches die Glykogenolyse in der Leber wie auch die Gluconeogenese zu stimulieren vermag. Letzteres im wesentlichen durch eine Erhöhung der hepatogenen Aufnahme von Alanin, Glutamin, Serin, Threonin und Lactat, nicht aber von Propionat. Somit kommen für die glucagoninduzierte, über den Glucosekonzentrationsverlauf und den ^{14}C -Glc-RA-Verlauf ermittelte Glucosefreisetzung prinzipiell zwei Stoffwechselwege in Frage:

- die Glykogenolyse des direkt aus Extraglucose oder indirekt aus Glucosemetaboliten gluconeogenetisch gebildeten Leberglykogens;
- die Gluconeogenese u.a. auch aus Glucosemetaboliten.

Aufgrund der vorausgehenden hohen exogenen Glucosebelastung konnte davon ausgegangen werden, daß insbesondere nach Abschluß der Glykogenrepletion eine glucagoninduzierte Steigerung der Gluconeogenese wegen noch bestehender Hemmechanismen von vorneherein ausgeschlossen werden konnte. Jedoch zeigt der vorher bereits angesprochene (siehe 4.2) ^3H -Glucoseabfall kurz vor Beginn der Glucagonbehandlung, daß möglicherweise kein gluconeogenetischer Abfluß von Glucosemetaboliten in das Leberglykogen mehr stattfindet, sondern daß wieder Glucose gebildet und diese an das Blut abgegeben wird (C_3 -Recycling). Dies

bedeutet, daß mit einer Gluconeogenese aus ^{14}C -markierten Glucosevorstufen während der Glucagonbehandlungsphase gerechnet werden muß.

Um den Umfang dieses Stoffwechselweges abzuschätzen, stehen in der vorliegenden Arbeit zwei Möglichkeiten zur Verfügung:

So muß zum einen davon ausgegangen werden, daß die in den Kontrollversuchen ohne Glucosebelastung (K_{A1}) zu beobachtende Hyperglykämie bei einem Organismus, der bedingt durch den mehrtägigen Futterentzug bereits auf die Gluconeogenese aus endogenen Vorstufen eingestellt ist, überwiegend gluconeogenetischen Ursprungs ist.

Zum anderen vermag der Gehalt an ^{14}C -Metaboliten (^{14}C -Gesamtaktivität— ^{14}C -Glucoseaktivität) von mit Extraglucose belasteten Tieren während der letzten 100 Minuten vor der Glucagonbehandlung wertvolle Hinweise über die Verfügbarkeit von radioaktiven Metaboliten für die Gluconeogenese liefern. Orientiert man sich an der mobilisierten ^{14}C -Glc-RA der Kontrollversuche K_{A1} , so würden danach (siehe Tabelle 15) rund 13,5 % der in den Vollversuchen mobilisierten ^{14}C -Glucose der Gluconeogenese entstammen. Dies bedeutet, daß dem Glucagon in diesen Versuchen vorwiegend eine glykogenolytische Wirkung zugeschrieben werden müßte.

Da bei Glucoseumsatzmessungen mit $[6-^3\text{H}]\text{-Glucose}$ (im Gegensatz zu Messungen mit $[\text{U-}^{14}\text{C}]\text{-Glucose}$) ein gluconeogenetisches Markierungsrecycling über Glucosemetaboliten weitgehend ausgeschlossen werden kann (siehe STANGASSINGER, 1986), könnte auch das Verhältnis der durch Glucagon mobilisierten ^3H - bzw. ^{14}C -Glucose wertvolle Hinweise über den Ablauf der Glykogenrepletion aus Glucose liefern. So stellten bereits NEWGARD et al. (1983) fest, daß die $^3\text{H}/^{14}\text{C}$ -Rate im neu synthetisierten Leberglykogen niedriger ist als in der vorher infundierten Glucose. Vergleicht man die prozentualen (bezogen auf den jeweiligen Minimalwert

vor dem Sichtbarwerden einer Glucagonwirkung) Zunahmen von ^3H - und ^{14}C -Glucose bei der Glucagonbehandlung (siehe Tabelle 16), so kann nur maximal ein Viertel der markierten Extraglutose direkt in das Leberglykogen überführt worden sein, wenn der über die Gluconeogenese an der ^{14}C -Mobilisierung beteiligte Anteil vernachlässigt wird.

Berücksichtigt man aber, daß die Gluconeogenese mit einem Anteil von 13,5 % zu diesem finalen ^3H - bzw. ^{14}C -Glc-RA-Verlauf beigetragen haben kann, dann müßten die in Tabelle 16 wiedergegebenen relativen ^{14}C -Glc-Anstiegswerte durch eine Umrechnung auf 86,5 % korrigiert werden. Der Anteil der direkt in das Leberglykogen überführten Glucose würde dann bei rund einem Drittel liegen.

Eine ^{14}C -Markierung des Leberglykogens über eine $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ -Infusion kann bei direkter Glykogensynthese ausgeschlossen werden. Somit kann die in der Versuchsreihe B an hungernden Tieren über die ^{14}C -Glc-RA im Verlauf von 2 Stunden ermittelte Glucosemenge von 1,82 mmol (siehe Tabelle 15) auf die indirekte (gluconeogenetische) Leberglykogensynthese zurückgeführt werden. Berücksichtigt man weiterhin, daß in dieser Versuchsreihe B - wie vorher bereits besprochen - die Glucagonwirksamkeit um rund 30 %^{a)} beeinträchtigt ist, dann liegen die vorher erwähnten 1,82 bzw. 2,40 mmol (bei Anpassung an die Glucagonempfindlichkeit der Versuchsreihe A) zwischen der aus den Daten der Versuchsreihe A (siehe Tabelle 15) berechneten, direkt und indirekt ins Glykogen eingebauten und wieder mobilisierten Glucosemenge von 2,67 mmol (3,09 mmol - 0,42 mmol) und der über den $^3\text{H}/^{14}\text{C}$ -Quotienten ermittelten, nur aus indirekt gebildetem Leberglykogen mobilisierten Glucosemenge von 2,06 mmol (2/3 von

a) Die Gesamtglucosemobilisierung liegt hier bei 6,33 mmol gegenüber 8,99 mmol in der Versuchsreihe A; die Relation von der über die Markierung berechneten Glucosemenge ist in beiden Versuchsreihen jedoch mit 29 bzw. 33 % annähernd gleich.

Tabelle 16: Glucagoninduzierter prozentualer Anstieg der ^3H - und ^{14}C -Glucose-Radioaktivität im Plasma von glucosebelasteten, hungernden Zwergziegen (n=9)

Tier	^3H -Glucoseanstieg ^{a)} (%)	^{14}C -Glucose- anstieg ^{b)} %	$^3\text{H}/^{14}\text{C}$ -Glucose- RA-Quotient
A	5,17	24,14	0,214
B	11,22	42,86	0,262
C	3,93	16,67	0,236
D	8,48	43,75	0,194
F	26,56	70,83	0,375
$\bar{x}$	11,07	39,65	0,256
$\pm s$	9,12	21,02	0,071
Vk (%)	82,38	53,01	27,73

a) ermittelt aus der Differenz des RA-Wertes nach 120-minütiger Glucagonbehandlung (t=600 min) und des RA-Minimalwertes zum Zeitpunkt t=528 min (s. auch Tab. A5 a)

b) ermittelt aus der Differenz des RA-Wertes nach 120-minütiger Glucagonbehandlung (t=600 min) und des jeweiligen Wertes bei unbehandelten Tieren (Versuch K_{A2})

3,09 mmol). Mit anderen Worten, der Anteil der gluconeogenetisch gebildeten Glykogenlucose dürfte mit ziemlicher Sicherheit bei hungernden Tieren mit einer durch Extraglucose induzierten Glykogenrepletion 67 % erreichen, jedoch stets unter 85 - 90 % liegen.

Da infolge der vergleichsweise niedrigen ^{14}C -SA von Glucose in der Versuchsreihe B nur eine äußerst geringe Konzentration an ^{14}C -Glucosemetaboliten vorliegen kann, dürfte der gluconeogenetische Anteil am glucagoninduzierten ^{14}C -Glucoseanstieg in diesen Versuchen vernachlässigbar klein ausfallen. Wurde die Glucagonbelastung von 2 auf 3 Stunden Gesamtdauer verlängert (siehe Tabelle 15), so stieg bei hungernden Tieren die mobilisierte Gesamtglucose von 6,33 mmol auf 18,25 mmol (+188 %) und die anhand des ^{14}C -Glc-RA-Verlaufes berechnete Glucosemenge von 1,82 mmol auf 7,67 mmol (+321 %). Dies zeigt, daß in der Versuchsreihe B trotz reduzierter Glucagonempfindlichkeit nicht nur die insgesamt mobilisierbare Glucosemenge erheblich steigerungsfähig ist, sondern auch der Anteil der vorher per Dauerinfusion zugeführten und zum überwiegenden Teil in das Leberglykogen eingebauten Extraglucose. Letzterer nimmt von 29 % (2-stündige Glucagonbehandlung) auf rund 45 % (3-stündige Glucagonbehandlung) zu (siehe Tabelle 15).

Noch auffälliger wird die Zunahme dieses Anteils bei phlorizinvorbehandelten Tieren. Hier liegt er nach 2- bzw. 3-stündiger Glucagonbehandlung bei 66 bzw. 79 %. Obwohl diese aus Glykogen mobilisierbare Extraglucose gegenüber den Werten unbehandelter, hungernder Tiere auch absolut zunimmt (von 1,82 mmol auf 2,59 mmol bzw. von 7,67 mmol auf 9,31 mmol), sind die vorher erwähnten erheblichen Zunahmen ihrer Anteile an der jeweils mobilisierten Gesamtglucose auch darauf zurückzuführen, daß letztere mit 3,67 bzw. 11,60 mmol (gegenüber 6,33 bzw. 18,25 mmol bei hungernden Tieren) eine deutliche Reduktion erfuhr. Diese Veränderungen, insbesondere in den mobilisierbaren ^{14}C -markierten Glucosemengen, machen folgendes deutlich: Zum einen

zeigt der Anstieg der über ^{14}C -Glucose berechneten mobilisierten Glucosemenge erneut (siehe auch 4.1 bzw. 4.2), daß eine Phlorizinbehandlung zu einer erheblichen Steigerung der Gluconeogeneserate^{a)} führt. Er zeigt aber darüber hinaus auch, daß diese gesteigerte Gluconeogeneserate bei glykogendepletierten Tieren auch eine Steigerung der indirekten Glykogensynthese aus Glucosemetaboliten bewirkt.

Die oben erwähnte verminderte Gesamtglucosemobilisierung bei phlorizinvorbehandelten Tieren (siehe Tabelle 15) zeigt, daß die Maßnahme, den katabolen Stoffwechselzustand der Tiere über eine induzierte Glucosurie zu verschärfen, um dadurch auch eine verstärkte Depletion der Leberglykogenspeicher zu erreichen, richtig war. Man muß nämlich davon ausgehen, daß zumindest ein guter Teil der tracerkinetisch nicht zuzuordnenden, durch Glucagon mobilisierten Gesamtglucose^{b)} auf der Entleerung von zur Zeit der Glucosebelastung (Versuchsabschnitt 2) noch vorhandenen Glykogenreserven beruht.

Ein anderer, kleiner Teil könnte auch auf eine glucagoninduzierte Steigerung der Gluconeogenese z.B. aus Glycerin^{c)} zurückzuführen sein. Daß auch bei phlorizinvorbehandelten, hungernden Zwergziegen vor Beginn der Glucosebelastung noch mobilisierbare Glykogenreserven vorhanden sein konnten, zeigt folgende Modellrechnung: Geht man davon aus, daß der hier gewählte Stoffwechselmodellzustand, von den Auswirkun-

-
- a) Die ^{14}C -Markierung im Glucosemolekül stammt aus $^{14}\text{CO}_2$ und konnte nur beim Ablauf der Gluconeogenese über Oxalacetat eingebaut werden.
- b) Gesamtglucose - ^{14}C -RA-Glucose; z.B. in Tabelle 15: $6,33 \text{ mmol} - 1,82 \text{ mmol} = 4,51 \text{ mmol}$ bei unbehandelten, hungernden Tieren bzw. $3,67 \text{ mmol} - 2,59 \text{ mmol} = 1,08 \text{ mmol}$ bei phlorizinvorbehandelten Tieren
- c) Glycerin mündet erst nach der Zwischenstufe Oxalacetat in den gluconeogenetischen Stoffwechselweg und kann dadurch nicht über die ^{14}C -Fixierung aus $^{14}\text{CO}_2$ im Glucosemolekül erfaßt werden (siehe STANGASSINGER, 1986).

gen auf den Glucosestoffwechsel her gesehen, in etwa dem Stoffwechselzustand hungernder, laktierender Kühe entspricht, so könnte auch der dort noch vorhandene Bestand an Leberglykogen von 33 μmol Glucoseäquivalenten/g Lebergewebe (STANGASSINGER und GIESECKE, 1986) als Orientierungshilfe für die hepatische Glykogenglucosekonzentration bei Zwergziegen dienen. Bei einem durchschnittlichen Körpergewicht von 31,9 kg und einem Anteil der Leber am Körpergewicht von 2,5 % entspräche dieser Restbestand an Glykogenglucose dann noch rund 26,3 mmol, also dem 11-fachen dessen, was nach 3-stündiger Glucagonbehandlung mit 2,3 mmol (11,6 mmol - 9,3 mmol) als bereits vorhandenes Glykogen^{a)} mobilisiert wurde.

4.4 Bewertung der Versuchsergebnisse und Schlußfolgerungen

Insgesamt gesehen erlauben die vorliegenden Versuchsergebnisse wichtige Feststellungen zum hepatischen Glucosestoffwechsel:

Der Wiederkäuerorganismus vermag unter den Bedingungen einer katabolen Stoffwechsellage auch bei einer extrem hohen exogenen Glucosebelastung Leberglykogen in einem beachtlichen Umfang indirekt, d.h. über den Weg der Gluconeogenese aus Glucosemetaboliten zu bilden. Bei extrem glucosedefizitären Stoffwechselzuständen wie z.B. nach mehrtägiger phlorizininduzierter Glucosurie ist der Anteil dieses Syntheseweges an der gesamten Leberglykogenproduktion sogar noch erheblich steigerungsfähig. Die Existenz eines derartigen Stoffwechselweges und dessen umfangreiche Beteiligung an der Glykogenproduktion ist für Wiederkäuer nichts ungewöhnliches, denn anders als bei Nichtwieder-

a) Die Möglichkeit einer Gluconeogenese aus Glyzerin als Quelle für diese Glucose bleibt hier unberücksichtigt.

käuern gibt es bei Wiederkäuern keine postabsorptive Anflutung von Glucose, die zur Aufrechterhaltung der Glucosehomeostase rasch beseitigt werden muß. Vielmehr ist die Leber aufgrund der gegebenen Verdauungsverhältnisse permanent, also auch unter Fütterungsbedingungen, auf Gluconeogenese eingestellt.

Überraschend ist jedoch einerseits, daß entgegen der bisherigen Vorstellung auch ein Überangebot an Glucose am Ablauf dieser gluconeogenetischen Automatik nichts zu ändern vermag (z.B. durch Hemmung). Allerdings gilt dies nur solange durch Abzug des synthetisierten Glucose-6-Phosphats (weg von der Bildung freier Glucose und hin zur Bildung von Glykogen) ein Stimulus für diesen Stoffwechselweg besteht. Andererseits überrascht, daß ein erheblicher Teil dieser Extraglucose in Form von Metaboliten sogar in eben diesen Stoffwechselweg eingeschleust werden kann.

Die Existenz derartiger Abläufe wirft aber neue Fragen auf, die noch der Klärung bedürfen, so z.B.:

- Welcher biochemische Mechanismus bewirkt diese Umleitung von synthetisiertem Glucose-6-Phosphat hin zum Glykogen? Ist es, wie HERS und HUE (1983) vermutet haben, eine Aktivierung der Glykogensynthetase (bei gleichzeitiger Inaktivierung der Phosphorylase), die dann Glucose-6-Phosphat ins Glykogen "abzieht", oder ist es, wie von BARTLEY (1966) vermutet, eine Hemmung der Glucose-6-Phosphatase, wodurch Glucose-6-Phosphat ins Glykogen "abgedrängt" wird?
- Wo findet der initiale Stoffwechsel von Extraglucose zu Metaboliten bzw. Vorstufen für die gluconeogenetische Glykogensynthese statt? Sind es periphere Gewebe wie der Verdauungstrakt und die Muskulatur oder ist es dem Konzept der metabolischen Zonierung der Leber (siehe JUNGGERMANN, 1982 und 1985) folgend die Leber selbst, die zur Glykolyse und Gluconeogenese gleichermaßen beiträgt?

Letzteres würde allerdings der bisherigen Erfahrung entgegenstehen, die besagt, daß die hepatische Glucoseaufnahme beim Wiederkäuer vernachlässigbar klein ist. Der Grund dafür ist darin zu sehen, daß das Enzym Glucokinase in der Wiederkäuerleber fehlt (BALLARD und OLIVER, 1964; STANLEY et al., 1986) sowie die Affinität des zweiten phosphorylierenden Enzyms, der Hexokinase, zu Glucose sehr gering ist und zusätzlich durch eine Anhäufung von Glucose-6-Phosphat allosterisch gehemmt werden kann. Andererseits kann aber, wie die vorliegende Untersuchung zeigt, Glykogen auch direkt, d.h. nach enzymatischer Phosphorylierung zu Glucose-6-Phosphat aus exogener Glucose gebildet werden. Der Umfang dieser direkten Glykogenbiosynthese ist zudem mit einem Anteil von rund 20-30 % der gesamten hepatogenen Glykogenproduktion nicht wesentlich kleiner als jener, der bei Versuchen an Monogastriern (u.a. NEWGARD et al., 1982, 1983; RADZIUK, 1979) gefunden wurde, obwohl deren Leberzellausstattung mit ATP-Glucose-6-Phosphat-Transferasen durchaus auch höhere Phosphorylierungsraten zuließe.

Entweder muß man angesichts solcher Befunde davon ausgehen, daß die Wiederkäuerleber doch über eine höhere Glucokinaseaktivität verfügt als bisher angenommen wurde. Da die Glucokinase als ein sehr schwer zu isolierendes Enzym gilt, besteht durchaus die Möglichkeit, daß ähnlich wie bei Taube und Meerschweinchen (STANLEY et al., 1984) - hier galt ebenso wie beim Wiederkäuer, daß dieses Enzym nur in unzureichender Aktivität vorhanden ist - mittels eines verbesserten Extraktionsverfahrens ein spezifisches, phosphorylierendes Enzym doch noch nachgewiesen werden kann.

Oder - und dies erscheint naheliegender - man macht sich das von Nordlie (1976) erstellte Konzept zu eigen, welches besagt, daß die PPa-Glucose-Phosphotransferaseaktivität der Glucose-6-Phosphatase einen physiologisch wichtigen Hilfsmechanismus für die Glucosephosphorylierung immer dann

ZUSAMMENFASSUNG

An durch Hungern (H) bzw. Hungern und phlorizininduzierter Glucosurie (H+P) glykogenepletierten Zwergziegen wurden in einer Modellstudie die Auswirkungen einer experimentellen Hyperglykämie und einer nachfolgenden Glucagondauerbelastung auf den Glucosestoffwechsel der Leber in vivo untersucht. Dabei sollte die intravenöse Applikation von $[U-^{14}C]$ -Glucose bzw. $NaH^{14}CO_3$ zusammen mit einer Glucose-dauerinfusion einen Einblick in Art und Umfang der hyperglykämisch induzierten Leberglykogensynthese vermitteln. Die Auswirkungen der einzelnen experimentellen Eingriffe in das Stoffwechselgeschehen auf den endogenen metabolischen Glucosefluß wurden anhand der spezifischen Radioaktivitätsveränderung von $[6-^3H]$ -Glucose ermittelt, die während des gesamten Versuchsablaufes kontinuierlich appliziert wurde.

Im einzelnen umfaßte die Untersuchung bei jedem Tier 4 Versuchsabschnitte:

- a) Eine Kontrollperiode zur Charakterisierung der Stoffwechselausgangslage (0-140 min);
- b) eine Glucosebelastungsperiode ($6,4 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-0,75}$) zur Auffüllung des Leberglykogenspeichers (140-280 min);
- c) eine Erholungsphase zur Normalisierung des Glucoseumsatzes (280-480 min);
- d) eine Glucagonbehandlung mit einer dreistufig dosierten Glucagondauerinfusion ($12,24$ und $36 \text{ ng} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$) zur Mobilisierung des neugebildeten Leberglykogens (480-800 bzw. 660 min).

Die wichtigsten Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1. In der Kontrollperiode bei einer Plasmaglukosekonzentration von 3,38 (H) bzw. 3,04 mmol/l (H+P) und einem Insulinspiegel von 5,2 mU/l (H) betrug der metabolische Glucosefluß (IRL_{GT}) 0,887(H) bzw. 1,041 mmol·h⁻¹·kg^{-0,75} (H+P).
2. Die intravenöse Glucosedauerinfusion führte zu einer Anhebung des Glucose- bzw. Insulinspiegels auf das 6- bzw. 30-fache des Ausgangswertes. Die endogene Glucoseproduktion wurde gleichzeitig auf 17 (H) bzw. 43 % (H+P) des jeweiligen Kontrollwertes gesenkt.; das Lactat/Alanin-Recycling kam mit 0,046 mmol·h⁻¹·kg^{-0,75} (H) nahezu vollständig zum Erliegen.

Der mit Hilfe einer intravenösen NaH¹⁴CO₃-Dauerinfusion gemessene gluceneogenetische Kohlenstofftransfer von CO₂ zu Glucose betrug 16,2 (H) bzw. 22,3 % (H+P).

3. Während der 200-minütigen Erholungsphase fielen die stark erhöhten Glucose- bzw. Insulinkonzentrationen mit einer fraktionellen Eliminationskonstanten von rund 0,7 % m⁻¹ bis auf Werte von 4,90 mmol/l bzw. 27,6 mU/l ab. Der metabolische Glucosefluß verringerte sich im gleichen Zeitraum auf 1,199 mmol·h⁻¹·kg^{-0,75}.
4. Die in der Erholungsphase eingeleitete Normalisierung des Glucosestoffwechsels setzte sich auch noch während der initialen (niedrig dosierten) Glucagonbehandlung fort, so daß bis zur Auslösung einer erneuten, jetzt glucagoninduzierten Hyperglykämie weitgehend wieder die Normalwerte erreicht oder sogar leicht unterschritten wurden.

Die während der Phase der höheren Glucagondosierung einsetzende und anhand des Blutglucosekonzentrationsverlaufes berechnete Glucosemobilisierung lag nach 120-minütiger Glucagonbehandlung bei 8,99 mmol. Rund 33 % davon (berechnet über die gleichzeitig freigesetzte ^{14}C -Glucose) war während und nach der experimentell induzierten Hyperglykämie in Form von Leberglykogen gespeichert worden. Nach intravenöser $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ -Dauerinfusion stieg im verlängerten Behandlungszeitraum (180 min) die Glucosefreisetzung auf 18,25 (H) bzw. 11,60 mmol (H+P) an, wobei 44,6 (H) bzw. sogar 78,6 % (H+P) während der Glucosebelastungsperiode synthetisiert wurden.

Die Ergebnisse, und zwar insbesondere die des zweiten (Glucosebelastung) und vierten Versuchsabschnittes (Glucagonbehandlung) wurden unter Berücksichtigung der bereits publizierten wiederkäuerspezifischen Besonderheiten im Kohlenhydratstoffwechsel und unter Einbeziehung der neuen Erkenntnisse zur "indirekten" Leberglykogensynthese aus Glucose bei Monogastrien diskutiert.

SUMMARY

Investigations by tracerkinetics on the influence of i.v. infusions of glucose and glucagon on hepatic glucose metabolism in pygmy goats

In pygmy goats depleted of glycogen by fasting (f) or phlorizin-induced glucosuria (f+p) resp. the effects of an experimental hyperglycemia and of a stepped glucagon infusion on the glucose metabolism of the liver were investigated in vivo in a model-study.

The intravenous application of $[U-^{14}C]$ -glucose or $NaH^{14}CO_3$ resp. together with a glucose continuous-infusion should permit an insight into the nature and extent of the hyperglycemic-induced liver glycogen synthesis. The effects of each experimental metabolic operation on the endogenous metabolic flux were obtained by means of the changes of the specific radioactivity of $[6-^3H]$ -glucose infused continuously during the whole running of the experiment.

In detail the experiment with each animal comprised 4 successive experimental periods:

- a) a control period to characterize the initial metabolic stage (0-140 min);
- b) a period of glucose infusion ($6,4 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-0,75}$) to replete liver glycogen (140-280 min);
- c) a period of recreation to normalize glucose turnover (280-480 min);
- d) a period of a three-step glucagon infusion (12,24 and $36 \text{ ng} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$) to mobilize the newly formed liver glycogen (480-600 resp. 660 min).

The most important results obtained can be summarized as follows:

- 1) In the control period with a plasma glucose concentration of 3,38 (f), resp. 3,04 mmol (f+p) and an insulin level of 5,2 mU/l (f) the metabolic glucose flux (IRL_{6T}) amounted to 0,887 (f) resp. 1,041 $mmol \cdot h^{-1} \cdot kg^{-0,75}$ (f+p).
- 2) The continuous-infusion of glucose induced a raising of the glucose or insulin level resp. on the 6-fold resp. 30-fold of the initial value. The endogenous glucose production rate was simultaneously lowered to 17 (f) resp. 43 % (f+p) of the corresponding control value; the lactate/alanin-recycling at a of rate 0,046 $mmol \cdot h^{-1} \cdot kg^{-0,75}$ (f) ceased almost completely. The gluconeogenic carbon transfer from CO_2 to glucose measured by means of an intravenous $NaH^{14}CO_3$ continuous-infusion amounted to 16,2 (f) resp. 22,3 % (f+p).
- 3) During the 200-minute-period of recreation the enormously increased glucose and insulin concentrations with a fractional elimination constant of about 0.7 % m^{-1} (f) went down to values of 4,90 mmol/l resp. 27,6 mU/l. The metabolic glucose flux decreased during this period to 1,199 $mmol \cdot h^{-1} \cdot kg^{-0,75}$.
- 4) The normalization of the glucose metabolism introduced during the period of recreation still continued during the initial (low-dosed) glucagon treatment with the result that until the provocation of another, now glucagon-induced hyperglycemia normal or even slightly lower values were attained.

The mobilization of glucose produced during the period of the higher glucagon dosage and calculated from the changes of the blood concentration amounted after a 120 minute-glucagon treatment to 8,99 mmol. Approximately

33 % of this amount (calculated from the simultaneously mobilized ^{14}C -glucose) were stored as liver glycogen during and after the experimental induced hyperglycemia.

After an intravenous continuous-infusion of $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ the glucose mobilization increased in the prolonged treatment period (180 min) to 18,25 (f) resp. 11,60 mmol (f+p), 44,6 (f) resp. even 78,6 % (f+p) of which were synthesized during and after the period of the glucose load.

The results, in particular those of the second (glucose load) and the fourth experimental period (glucagon treatment) were discussed with regard to the already published ruminant-specific particulars in the carbohydrate metabolism including the new knowledge about the "indirect" liver glycogen synthesis from glucose in non-ruminants.

LITERATURVERZEICHNIS

- ANNISON, E.F. & WHITE, R.R. (1961)
Glucose utilization in sheep.
Biochem. J. 80, 162 - 169
- ARMSTRONG, D.G. & BEEVER, D.E. (1969)
Post-abomasal digestion of carbohydrate in the adult ruminant.
Proc. Nutr. Soc. 28, 121 - 131
- BABCOCK, M.B. & CARDELL, R.R. (1974)
Hepatic glycogen patterns in fasted and fed rats.
Am. J. Anat. 140, 299 - 321
- BAIRD, G.D. & HEITZMAN, R.J. (1970)
Gluconeogenesis in the cow: the effects of a glucocorticoid on hepatic intermediary metabolism.
Biochem. J. 116, 865 - 872
- BAIRD, G.D., HEITZMAN, R.J. & HIBBIT, K.G. (1972)
Effects of starvation on intermediary metabolism in the lactating cow. A comparison with metabolic changes occurring during bovine ketosis.
Biochem. J. 128, 1311 - 1318
- BAIRD, G.D., LOMAX, M.A., SYMONDS, H.W. & SHOW, S.R. (1980)
Net hepatic and splanchnic metabolism of lactate, pyruvate and propionate in dairy cows in vivo in relation to lactation and nutrient supply.
Biochem. J. 186, 47 - 57
- BAIRD, G.D., LOMAX, M.A., VAN DER WALT, J.G. & BERGMAN, E.N. (1983)
Whole-body metabolism of glucose and lactate in productive sheep and cows.
Br. J. Nutr. 50, 249 - 265
- BALLARD, F.J. & OLIVER, J.T. (1964)
The effect of concentration on glucose phosphorylation and incorporation into glycogen in the livers of foetal and adult rats and sheep.
Biochem. J. 92, 131 - 136

- BARTLEY, J.C. & BLACK, A.L. (1966)
Effects of exogenous glucose on glucose metabolism in dairy cows.
J. Nutr. 89, 317 - 324
- BASSET, J.M. (1971)
The effects of glucagon on plasma concentrations of insulin, growth hormone, glucose and free fatty acids in sheep: Comparison with the effect of catecholamines.
Aust. J. biol. Sci. 24, 311 - 320
- BENDISCH, K. (1986)
Energiemetabolite in Blutplasma von Zwergziegen unter verschiedenen katabolen Stoffwechselbedingungen.
Diss. med. vet., München
- BERGMAN, E.N. (1983)
Glucose.
In P.M. Riis (ed.): Dynamic Biochemistry of Animal Production. World Animal Science, Elsevier, Amsterdam; pp. 173 - 196
- BROCKMAN, R.P. (1986)
Pancreatic and adrenal hormonal regulation of metabolism.
pp. 405 - 419
In Miligan, L.P., Grovum, W.L. & Dobson, A. (eds.): Control of digestion and metabolism in ruminants. Proceedings of the Sixth International Symposium on Ruminant Physiology held at Banff, Canada, 1986 by Prentice Hall; A Reston Book
- BROSNAN, J.T. (1982)
Pathways of carbon flux in gluconeogenesis.
Fed. Proc. 41, 91 - 95
- BRUNNENGRABER, H., BOUTRY, M. & LOWENSTEIN, J.M. (1973)
Fatty acid and 3- β -hydroxysterol synthesis in the perfused rat liver.
J. Biol. Chem. 248, 2656 - 2669
- BUGAUT, M. (1987)
Occurrence, absorption and metabolism of short chain fatty acids in the digestive tract of mammals.
Comp. Biochem. Physiol. 86B, 439 - 472
- CAHILL, G.F., Jr., ASHMORE, J., EARLE, A.S. & ZOTTU, S. (1958)
Glucose penetration into liver.
Am. J. Physiol. 192, 491 - 496

CHAIYABUTR, N., FAULKNER, A. & PEAKER, M. (1983)
Effects of exogenous glucose metabolism in the lacting goat
in vivo.

Br. J. Nutr. 49, 159 - 165

COOMBE, N.B. & SIDDONS, R.C. (1973)
Carbohydrases of the bovine small intestine.
Brit. J. Nutr. 30, 269 - 276

DEVOS, P. & HERS, H.G. (1979)
A molecular order in the synthesis and degradation of
glycogen in the liver.
Eur. J. Biochem. 99, 161 - 167

DEVOS, P. & HERS, H.G. (1980)
Random, presumably hydrolytic, and lysosomal glycogenolysis
in the livers of rats treated with phlorizin and of newborn
rats.
Biochem. J. 192, 177 - 181

DE WULF, H. & HERS, H.G. (1968)
The stimulation of glycogen synthesis and of glycogen
synthetase in the liver by the administration of glucose.
Eur. J. Biochem. 2, 50 - 56

DE WULF, H. & HERS, H.G. (1968)
The interconversion of liver glycogen synthetase a and b in
vitro.
Eur. J. Biochem. 6, 552 - 557

EGAN, A.R., McRAE, J.C. & LAMB, C.S. (1983)
Threonine metabolism in sheep:
1. Threonine catabolism and gluconeogenesis in mature
Blackface wethers given poor quality hill herbage.
Br. J. Nutr. 49, 373 - 383

EXTON, J.H. (1972)
Gluconeogenesis.
Metabolism 21, 945 - 990

EXTON, J.H., LEWIS, S.B., HO, R.J., ROBISON, G.A. & PARK,
C.R. (1951)
The role of cyclic AMP in the interaction of glucagon and
insulin in the control of liver metabolism.
Ann. NY Acad. Sci. 185, 85 - 100

GEDDES, R. (1986)
Glycogen: A metabolic Viewpoint.
Biosci. Rep. 6, 415 - 428

GEDDES, R. & STRATTON, G.C. (1977)
The influence of lysosomes on glycogen metabolism.
Biochem. J. 163, 193 - 200

GLADTKE, E. & VON HATTINGBERG, H.M. (1977)
Pharmakokinetik: Eine Einführung.
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York

HERS, H.G. (1976)
The control of glycogen metabolism in the liver.
Ann. Rev. Biochem. 45, 167 - 189

HERS, H.G. (1981)
Non-hormonal control of glycogen synthesis.
In L. Hue & G. Van der Werve (eds.): Short-term regulation
of liver metabolism.
Biomedical Press, Elsevier, North-Holland; pp. 105 - 117

HERS, H.G. & HUE, L. (1983)
Gluconeogenesis and related aspects of glycolysis.
Ann. Rev. Biochem. 52, 617 - 653

HERS, H.G. & VAN SCHAFTINGEN, E. (1982)
Fructose 2,6-biphosphate two years after its discovery.
Biochem. J. 206, 1 - 12

HETENYI, G. (Jr.) & NORWICH, K.H. (1974)
Validity of the rates of production and utilization of
metabolites as determined by tracer methods in intact
animals.
Fed. Proc. 33, 1841 - 1848

HINKS, N.T., MILLS, S.C. & SETCHELL, B.P. (1966)
A simple method for the determination of the specific
activity of carbon dioxide in blood.
Anal. Biochem. 17, 551 - 553

HUE, L. (1981)
The role of futile cycles in the regulation of carbohydrate
metabolism in the liver.
Adv. Enzymol. 52, 247 - 331

HUE, L. (1982)

Futile cycles and regulations of metabolism.
In H. Sies, (ed.): Metabolic compartmentation.
Academic Press Inc. LTD, London; pp. 71 - 97

ISHIWATA, K., HETENYI, G. (Jr.) & VRANIC, M. (1969)

Effect of D-ribose or D-glucose on the turnover of glucose
in pancreatectomized dogs maintained on matched intraportal
insulin.
Diabetes 18, 820 - 827

ISSEKUTZ, B. (Jr.) & VRANIC, M. (1980)

Role of glucagon in regulation of glucose production in
exercising dogs.
Am. J. Physiol. 238, E 13 - 20

JANES, A.N., WEEKES, T.E.C. & ARMSTRONG, D.G. (1985)

Absorption and metabolism of glucose by the mesenteric -
drained viscera of sheep fed on dried- grass or ground,
maize-based diets.
Br. J. Nutr. 54, 449 - 458

JONES, G.B. (1965)

Determination of the specific activity of labelled blood
glucose by liquid scintillation using glucose pentaacetate.
Anal. Biochem. 12, 249 - 256

JUDSON, G.J. & LENG, R.A. (1973)

Studies on the control of gluconeogenesis in sheep: effect
of glucose infusion.
Br. J. Nutr. 29, 159 - 180

JUNGERMANN, K., HEILBRONN, R., KATZ, N. & SASSE, D. (1982)

The glucose/glucose-6-phosphate-cycle in the periportal and
perivenous zone of rat liver.
Eur. J. Biochem. 123, 429 - 436

JUNGERMANN, K. & KATZ, N. (1982)

Metabolic heterogeneity of liver parenchyma.
In H. Sies (ed.): Compartmentation; Academic Press,
London; pp. 411 - 435

KATZ, J. & ROGNSTAD, R. (1978)

Compartmentation of glucose metabolism in liver.
In P.A. Srere and R.W. Estabrook (eds.): Microenvironment
and metabolic compartmentation.
Academic Press Inc. LTD, London; pp. 227 - 243

- KATZ, J., WALSH, P.A. & ROGNSTAD, R. (1978)
Glucose phosphorylation, glucose-6-phosphatase and recycling in rat hepatocytes.
J. Biol. Chem. 253, 4530 - 4536
- KIPNIS, D.M. HELMREICH, E. & CORI, C.F. (1959)
Studies of tissue permeability.
IV. The distribution of glucose between plasma and muscle.
J. Biol. Chem. 234, 165 - 170
- KLOE, U. (1983)
Glucosetoleranz und renale Glucoseausscheidung bei Zwergziegen.
Diss. med. vet., München
- KREBS, H.A. (1972)
The pasteur effect and the relations between respiration and fermentation.
Essays Biochem. 8, 1 - 34
- KRONFELD, D.S., RAMBERG, C.F. & SHAMES, D.M. (1971)
Multicompartmental analysis of glucose kinetics in normal and hypoglycemic cows.
Am. J. Physiol. 220, 886 - 893
- LAWRENCE, G.M., TRAYER, I.P. & WALKER, D.G. (1984)
Histochemical and immunohistochemical localization of hexokinase isoenzymes in adult rat liver.
Histochem. J. 16, 1099 - 1111
- LICKLEY, H.L., ROSS, G.G. & VRANIC, M. (1979)
Effects of selective insulin or glucagon deficiency on glucose turnover.
Am. J. Physiol. 236, E 255 - 262
- LYLE, R.R., DE BOER, G., MILLS, S.E., RUSSEL, R.W. BEITZ, D.C. & YOUNG, J.W. (1984)
Glucose kinetics, plasma metabolites and endocrine response during experimental ketosis in steers.
J. Dairy Sci. 67, 2255 - 2264
- MACKRELL, D.J. & SOKAL, J.E. (1969)
Antagonism between the effects of insulin and glucagon on the isolated liver.
Diabetes 18, 724 - 732

- MATSUMURA, N., CHENG, J.S. & KALANT, N. (1975)
Insulin control of hepatic glucose production.
Can. J. Biochem. 53, 28 - 32
- MATSUMURA, T. & THURMAN, R.G. (1984)
Predominance of glycolysis in pericentral regions of the liver lobule.
Eur. J. Biochem. 140, 229 - 234
- MILLS, S.E., LYLE, R.R., BEITZ, D.C. & YOUNG, J.W. (1984)
In vitro hepatic gluconeogenesis during experimental ketosis produced in steers by 1,3-butanediol and phlorizin.
J. Dairy Sci. 67, 2265 - 2273
- NEWGARD, C.B., HIRSCH, L.J., FOSTER, D.W. & MCGARRY (1983)
Studies on the mechanism by which exogenous glucose is converted into liver glycogen in the rat.
J. Biol. Chem. 258, 8046 - 8052
- NORDLIE, R.C. (1976)
Glucose-6-phosphatase-phosphotransferase: roles and regulations in relation to gluconeogenesis.
In R.W. Hanson & M.A. Mehlmann (eds.): Gluconeogenesis: Its Regulation in Mammalian Species.
John Wiley & Sons, New York; pp. 93 - 152
- OKAJIMA, F. & UI, M. (1979)
Metabolism of glucose in hyper- and hypothyroid rats in vivo: Glucose-turnover values and futile-cycle activities obtained with ^{14}C - and ^3H -labeled glucose.
Biochem. J. 182, 565-575
- ØRSKOV, E.R., GRUBB, D.A., SMITH, J.S., WEBSTER, A.J.F. & CORRIGALL, W. (1979)
Efficiency of utilization of volatile fatty acids for maintenance and energy retention by sheep.
Br. J. Nutr. 41, 541 - 551
- PARILLA, R., GOODMAN, M.N. & TOEWS, C.J. (1974)
Effect of glucagon insulin ratios on hepatic metabolism.
Diabetes 23, 725 - 731
- PERUCHE, T. (1981)
Untersuchungen über die diabetogene Wirkung von Streptozotocin bei Zwergziegen.
Diss. med. vet., München

PILKIS, S.J., REGEN, D.M., CLAUS, T.H. & CHERRINGTON, A.D. (1985)

Role of hepatic glycolysis and gluconeogenesis in glycogen synthesis.

Bio. Essays 2, 273 - 277

PLAS, C. & NUNEZ, J. (1975)

Glycogenolytic response to glucagon of cultured fetal hepatocytes.

J. Biol. Chem. 250, 5304 - 5311

POSTLE, A.D. & BLOXHAM, D.P. (1980)

The use of tritiated water to measure absolute rates of hepatic glycogen synthesis.

Biochem. J. 192, 65 - 73

PRIOR, R.L. & CHRISTENSON, R.K. (1978)

Insulin and glucose effects on glucose metabolism in pregnant and nonpregnant ewes.

J. Anim. Sci. 46, 211 - 218

PRIOR, R.L. & SMITH, S.B. (1982)

Hormonal effects on partitioning of nutrients for tissue growth role of insulin.

Fed. Proc. 40, 2545 - 2549

PROBST, J., SCHWARTZ, P. & JUNGERMANN, K. (1982)

Induction in primary culture of "gluconeogenic" and "glycolytic" hepatocytes resembling periportal and perivenous cells.

Eur. J. Biochem. 126, 271 - 278

QUITTERER, U. (1987)

Chromodiagnostische Untersuchung des Einflusses bestimmter metabolischer Belastungszustände auf die Leberfunktion von Zwergziegen.

Diss. med. vet., München

RADZIUK, J. (1979)

Hepatic glycogen formation by direct uptake of glucose following oral glucose loading in man.

Can. J. Physiol. Pharmacol. 57, 1196 - 1199

RADZIUK, J. (1981)

Glucose and glycogen metabolism, following glucose ingestion in man: a turnover approach.

In C. Cobelli & R.N. Bergman (eds.): Carbohydrate metabolism. John Wiley & Sons Ltd., New York; pp. 239 - 266

RADZIUK, J. (1982)

Sources of carbon in hepatic glycogen synthesis during absorption of an oral glucose load in humans.
Fed. Proc. 41, 110 - 116

RADZIUK, J., NORWICH, K.H. & VRANIC, M. (1978)

Experimental validation of measurements of glucose turnover in nonsteady state.
Am. J. Physiol. 234, E 84 - 93

RADZIUK, J., VAN VLIET, S. & WOLFE, B.M. (1979)

The layering formation and the release of superficial layer into the systemic circulation by glucagon.
Diabetes 28, 357

RADZIUK, J. & VRANIC, M. (1977)

Estimating rapid changes in the rates of glucose production from glycogenolysis and recycling through lactate.
Fed. proc. 36, 236 - 238

RAINER, H. (1986)

Purinmetaboliten im Plasma von Zwergziegen unter Belastungszuständen.
Diss. med. vet., München

SACHS, L. (1984)

Angewandte Statistik.
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York

SANDNER, N. (1987)

Tracerkinetische Untersuchungen zur Glucocorticoid-Wirkung auf den Glucosestoffwechsel von Zwergziegen.
Diss. med. vet., München

SASSE, D. (1975)

Dynamics of liver glycogen.
Histochemistry 45, 237 - 254

SCHMIDT, S.P., SMITH, J.A. & YOUNG, J.W. (1975)

Rapid determination of [carbon-14]-glucose specific radioactivity for in vivo glucose kinetics.
J. Dairy Sci. 58, 952 - 956

SHIKAMA, H. & UI, M. (1978)

Glucose load diverts hepatic gluconeogenic product from glucose to glycogen in vivo.
Am. J. Physiol. 235, E 354 - 360

SHIPLEY, R.A. & GIBBONS, A.P. (1975)
Rate of incorporation of CO_2 carbon into glucose and other
body constituents in vivo.
Can. J. Physiol. Pharmacol. 53, 895 - 902

SÖLING, H.D. & KLEINEKE, D. (1976)
Species dependent regulation of hepatic gluconeogenesis in
higher animals.
In R.W. Hanson & M.A. Mehlman (eds.): Gluconeogenesis: its
regulation in mammalian species; John Wiley & Sons, New
York; pp. 369 - 341

SPENCE, J.T. & KOUELKA, A.P. (1985)
Pathways of glycogen synthesis from glucose in hepatocytes
maintained in primary culture.
J. Biol. Chem. 260, 1521 - 1526

STALMANS, W., DE WULF, H., HUE, L. & HERS, H.G. (1974)
The sequential inactivation of glycogen phosphorylase and
activation of glycogen synthetase in liver after the
administration of glucose to mice and rats.
Eur. J. Biochem. 41, 127 - 134

STANGASSINGER, M. (1986)
Tracerkinetische Differenzierung und Quantifizierung des
metabolischen Glucoseflusses: Eine Modellstudie an Zwerg-
ziegen.
Habilitationsschrift, München

STANGASSINGER, M. & GIESECKE, D. (1986)
Splanchnic metabolism of glucose and related energy sub-
strates. In L.P. Milligan, W.L. Grovum & A. Dobson (eds.):
Control of digestion and metabolism in ruminants. Pro-
ceedings of the Sixth International Symposium on Ruminant
Physiology held at Banff, Canada, 1986 by Prentice Hall; A
Reston Book; pp. 347 - 366

STANLEY, J.C., DOHM, L., McMANUS, B.S. & NEWSHOLME, E.A.
(1984)
Activities of glucokinase and hexokinase in mammalian and
avian liver.
Biochem. J. 224, 667 - 671

STEELE, R. (1959)
Influence of glucose loading and of injected insulin on
hepatic glucose output.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 82, 420 - 430

STEELE, R., WALL, J.S., DE BODO, R.C. & ALTSZULER, N. (1956)

Measurement of size and turnover rate of body glucose pool by the isotope dilution method.

Am. J. Physiol. 187, 15 - 24

TEUTSCH, H.F. (1981)

Chemomorphology of liver parenchyma.

Progr. Histochem. Cytochem. 14, 1 - 92

THOMPSON, J.R., WEISER, G., SETO, K. & BLACK, A.L. (1975)

Effect of glucose load on synthesis of plasma glucose in lactating cows.

J. Dairy Sci. 58, 362 - 370

TREACHER, R.J., BAIRD, D.G. & YOUNG, J.L. (1976)

Anti-ketogenic effect of glucose in the lactating cow deprived of food.

Biochem. J. 158, 127 - 134

UNGER, R. (1971)

Glucagon and the insulin : glucagon ratio in diabetes and other catabolic illnesses.

Diabetes 20, 834 - 838

VAN DER WALT, J.G. (1984)

Metabolic interactions of lipogenic precursors in the ruminant.

In Gilchrist, F.M.C. & Mackie, R.J. (eds.): Herbivore nutrition in the subtropics and tropics. The Science Press (Pty) Ltd., Craighall, South Africa; pp. 571 - 593

VAN DE WERVE, G. (1981)

Non-hormonal control of glycogenolysis.

In Hue, L. & Van de Werve, G. (eds.): Short-term regulation of liver metabolism. Biomedical Press, Elsevier, North-Holland; pp. 93 - 104

WEINHOUSE, S. (1976)

Regulation of glucokinase in liver.

Curr. Top. Cell. Regul. 11, 1 - 50

WELSH, F.A. (1972)

Distribution of glycogen within the liver lobule.

J. Histochem. Cytochem. 20, 112 - 115

WEST, C.E. & PASSEY, R.F. (1967)
Effects of glucose load and of insulin on the metabolism of
glucose and of palmitate in sheep.
Biochem. J. 102, 58 - 64

WHITTON, P.D. (1981)
Hormonal regulation of glycogenolysis.
In Hue, L. & Van der Werve, G. (eds.): Short-term regula-
tion of liver metabolism. Biomedical Press, Elsevier,
North-Holland; pp. 45 - 62

WILLIAMS, T.F., EXTON, J.H., PARK, C.R. & REGEN, D.M.
(1968)
Stereospecific transport of glucose in the perfused rat
liver.
Am. J. Physiol. 215, 1200 - 1209

WOODS, H.F. & KREBS, H.A. (1971)
Lactate production in the perfused rat liver.
Biochem. J. 125, 129 - 139

YOUNG, J.W., SCHMIDT, S.P., AKOWUAH, E.S., HESS, G.S. &
McGILLIARD, A.D. (1974)
Effects of phlorizin on glucose kinetics in the bovine.
J. Dairy Sci. 57, 689 - 694

ZAKIM, D. (1984)
Integration of energy metabolism by the liver.
In Green, M. & Green, H.L. (eds.): The role of the gastro-
intestinal tract in nutrient delivery.
Academic Press Inc. LTD, London; pp. 157 - 181

ZAKIM, D. & BAYER, T.D. (1982)
Hepatology: A textbook of liver disease.
Sounders, Philadelphia

7 TABELLARISCHER ANHANG

Tabelle A1: Mittlere ($\bar{x} \pm s$) Glucose- und Insulinkonzentration im Plasma hungernder Zwergziegen vor (Kontrollperiode), während (Belastungsperiode) und nach (Erholungsphase) einer exogenen Glucosebelastung^{a)} (V_A ; K_{A2}) bzw. bei fehlender exogener Glucosebelastung (K_{A1})

1) Kontrollperiode (0 - 140 min)

Versuchsdauer (min)	Glucose (mmol/l)		Insulin ^{b)} (mU/l)
	$V_A + K_{A2}$ (n=10) ^{c)}	K_{A1} (n=4)	$V_A + K_{A2}$ (n=10)
Kontroll- periode (0-140 min):			
0	3,35 $\pm$ 0,26	3,42 $\pm$ 0,31	4,8 $\pm$ 2,1
5	3,42 $\pm$ 0,22	3,37 $\pm$ 0,38	- d)
10	3,35 $\pm$ 0,34	3,48 $\pm$ 0,36	-
15	3,37 $\pm$ 0,21	3,40 $\pm$ 0,43	-
20	3,42 $\pm$ 0,17	3,53 $\pm$ 0,32	-
30	3,40 $\pm$ 0,27	3,42 $\pm$ 0,27	-
40	3,39 $\pm$ 0,19	3,42 $\pm$ 0,26	-
50	3,39 $\pm$ 0,16	3,43 $\pm$ 0,26	5,1 $\pm$ 2,3 ^{e)}
60	3,40 $\pm$ 0,20	3,43 $\pm$ 0,26	-
80	3,40 $\pm$ 0,22	3,45 $\pm$ 0,36	-
100	3,44 $\pm$ 0,16	3,40 $\pm$ 0,37	5,5 $\pm$ 1,8 ^{e)}
120	3,43 $\pm$ 0,20	3,40 $\pm$ 0,20	-
140	3,42 $\pm$ 0,20	3,39 $\pm$ 0,25	5,4 $\pm$ 3,7

a) 6,37 $\pm$ 0,5 mmol $\cdot$ h⁻¹ $\cdot$ kg^{-0,75}

b) keine Messungen bei den Kontrollversuchen K

c) Anzahl der Versuche

d) - = nicht bestimmt

e) n = 9

Tabelle A1 (Fortsetzung):

2) Belastungsperiode und Erholungsphase

Versuchsdauer (min)	Glucose (mmol/l)		Insulin ^{b)} (mU/l)
	V _A +K _{A2} (n=10) ^{c)}	K _{A1} (n=4)	V _A +K _{A2} (n=10)
Belastungsperiode (140-280 min):			
145	4,95 ± 0,50	3,37 ± 0,21	14,3 ± 3,2
150	6,22 ± 0,53	3,48 ± 0,38	20,7 ± 6,2
155	7,49 ± 0,84	3,37 ± 0,21	30,0 ± 8,3
160	8,69 ± 0,79	3,49 ± 0,28	35,4 ± 14,7
170	10,70 ± 1,32	3,52 ± 0,25	39,7 ± 21,3
180	11,77 ± 1,31	3,50 ± 0,27	42,2 ± 21,9
190	12,80 ± 1,15	3,52 ± 0,29	47,7 ± 19,8
200	14,26 ± 1,05	3,47 ± 0,23	53,6 ± 20,1
220	16,47 ± 1,61	3,42 ± 0,22	56,1 ± 17,1 ^{e)}
240	18,21 ± 1,85	3,38 ± 0,14	67,0 ± 18,7 ^{e)}
260	19,19 ± 1,71	3,36 ± 0,21	79,2 ± 30,2
280	20,69 ± 1,86	3,35 ± 0,23	101,4 ± 41,8 ^{e)}
Erholungsphase (280-480 min):			
285	18,79 ± 2,45	3,40 ± 0,22	103,8 ± 41,3
290	17,47 ± 2,02	3,41 ± 0,13	99,3 ± 42,8
295	16,83 ± 2,04	3,39 ± 0,19	110,3 ± 51,7
300	16,18 ± 1,91	3,41 ± 0,12	96,2 ± 41,7
310	14,73 ± 1,96	3,45 ± 0,06	99,7 ± 45,7
320	13,89 ± 1,63	3,41 ± 0,18	88,9 ± 38,6
330	12,95 ± 1,76	3,46 ± 0,11	81,7 ± 39,5
340	12,23 ± 1,65	3,44 ± 0,22	76,1 ± 43,7
360	10,63 ± 1,83	3,43 ± 0,26	71,8 ± 29,1 ^{e)}
380	9,67 ± 1,96	3,36 ± 0,25	65,7 ± 23,2
400	8,04 ± 1,58	3,30 ± 0,16	59,1 ± 20,0
430	7,02 ± 1,51	3,35 ± 0,18	41,9 ± 11,6
460	5,72 ± 1,25	3,48 ± 0,29	35,4 ± 12,0
480	4,90 ± 1,31	3,38 ± 0,32	27,6 ± 10,5

Tabelle A2 a: Plasmaglukose- und Plasmainsulinkonzentration im Versuchsabschnitt 4 (480-600 min) der Vollversuche V_A

Versuchs- tier	Versuchsdauer (min):												
	480	490	500	510	520	530	540	550	560	570	580	590	600
Glucose (mmol/l)													
A	4,90	4,56	4,39	4,08	4,13	3,28	4,17	4,21	4,34	4,99	5,20	5,62	5,93
B	6,05	5,60	4,54	5,00	4,29	4,15	3,72	3,38	4,22	4,29	4,49	4,49	4,77
C	5,92	5,64	5,14	5,12	4,29	4,41	3,98	4,16	4,16	4,21	4,49	4,50	4,81
D	3,23	3,31	2,73	2,85	2,44	2,36	2,83	2,73	3,05	3,36	3,72	3,95	4,31
F	4,61	4,44	4,44	3,72	3,76	3,57	4,46	5,19	5,57	6,56	7,26	7,55	7,87
Insulin (mU/l)													
$\bar{x}$	4,94	4,71	4,26	4,15	3,78	3,55	3,83	3,93	4,27	4,68	5,03	5,22	5,54
$\pm s$	1,14	0,96	0,88	0,94	0,78	0,80	0,62	0,93	0,89	1,20	1,35	1,44	1,43
A	32,9	27,9	24,3	22,3	20,7	20,6	21,6	22,1	24,7	30,5	42,1	45,0	46,6
B	35,1	22,5	23,5	17,5	20,2	23,2	20,0	21,4	20,3	26,0	26,8	26,5	24,5
C	41,7	35,5	35,2	24,6	23,8	24,9	21,5	21,6	23,2	28,5	26,9	33,7	34,9
D	21,8	20,8	19,2	17,5	13,7	15,5	9,2	13,2	20,3	25,4	34,6	25,2	35,8
F	25,0	19,4	18,1	15,7	15,2	16,1	14,1	22,0	17,9	22,8	31,7	35,6	42,6
$\bar{x}$	31,3	25,2	24,7	19,5	18,7	20,1	17,3	20,1	20,2	26,64	32,4	31,2	36,9
$\pm s$	8,0	6,6	6,8	3,7	4,2	4,2	5,5	3,9	3,6	2,96	6,3	8,5	8,4

Tabelle A2 b: Plasmaglukosekonzentration im Versuchsabschnitt 4 (480-600 min) der Kontrollversuche K_{A1} (keine Glucosebelastung im Versuchsabschnitt 2: 140-280 min) und K_{A2} (keine Glucagonbehandlung im Versuchsabschnitt 4: 480-600 min)

Versuchstier	Versuchsdauer (min):	Plasmaglukose (mmol/l)										
		Kontrollversuche K _{A1}										
	480	490	500	510	520	530	540	550	560	570	580	600
B	2,96	2,95	3,14	3,55	3,81	3,93	4,03	4,25	4,23	4,39	4,61	4,75
C	3,55	3,55	3,44	3,63	3,68	3,72	3,87	4,01	4,02	4,14	4,23	4,45
D	3,10	3,16	3,30	3,27	3,25	3,55	3,76	3,99	4,16	4,44	4,89	5,20
F	3,20	3,24	3,05	3,15	3,19	3,80	- a)	3,87	4,06	4,78	5,81	6,51
												6,55
$\bar{x}$	3,20	3,22	3,23	3,40	3,48	3,75	3,89	4,03	4,23	4,44	4,89	5,23
+s	0,25	0,25	0,17	0,23	0,31	0,16	0,14	0,16	0,26	0,26	0,67	0,91
-												0,86
		Kontrollversuch K _{A2}										
		Kontrollversuche K _{A2}										
B _{b)}	4,82	3,86	3,38	3,11	2,70	2,46	2,29	2,12	1,88	2,00	2,27	2,17
C _{b)}	6,79	6,04	6,01	5,45	5,31	4,92	4,31	3,87	3,72	3,35	3,25	3,15
	6,02	5,27	5,09	4,84	4,45	4,28	4,12	3,76	3,68	3,40	3,12	3,00
D	2,82	2,79	2,77	2,53	2,60	2,50	2,59	2,85	2,99	2,90	3,10	3,05
F	3,89	3,33	3,09	2,57	2,73	2,49	2,32	2,35	2,27	2,29	2,88	2,75
												2,75
$\bar{x}$	4,87	4,26	4,05	3,70	3,56	3,33	3,13	2,99	2,91	2,78	2,92	2,82
+s	1,59	1,96	1,42	1,36	1,25	1,18	1,00	0,80	0,83	0,63	0,39	0,39
-												0,33

a) - = nicht bestimmt
b) mit Tier C wurden 2 Kontrollversuche K_{A2} durchgeführt

Tabelle A2c: Plasmainsulinkonzentration im Versuchsabschnitt 4 (480-600 min) der Kontrollversuche K_{A1} (keine Glucosebelastung im Versuchsabschnitt 2: 140-280 min) und K_{A2} (keine Glucosebelastung im Versuchsabschnitt 4: 480-600 min).

Versuchs- tier	Versuchsdauer (min):												
	480	490	500	510	520	530	540	550	560	570	580	590	600
	Insulin (mU/l)												
	Kontrollversuch K _{A1}												
B	0,8	-	2,0	0,5	1,1	1,4	2,4	5,4	5,4	3,8	8,2	12,1	7,5
C	3,0	3,7	5,2	3,8	4,5	6,0	6,5	6,8	7,0	8,2	10,3	9,7	9,3
D	6,0	6,8	8,1	6,8	6,9	7,4	16,6	17,1	16,4	24,0	32,7	34,6	35,2
F	2,2	0,7	0,8	0,9	1,3	6,4	-	10,6	8,4	11,2	12,3	15,0	16,9
$\bar{x}$	3,0	3,7	4,0	3,0	3,4	5,3	8,5	10,0	9,3	11,8	15,9	17,8	17,2
$\pm s$	2,2	3,1	3,3	2,9	2,8	2,7	7,3	5,2	4,9	8,7	11,9	11,4	12,7
	Kontrollversuch K _{A2}												
B	19,3	19,4	17,0	13,9	11,3	8,1	8,2	7,2	5,9	4,6	4,4	3,0	2,3
C	38,3	38,0	28,6	26,6	25,9	21,5	18,3	18,1	17,1	16,9	13,2	11,5	12,8
	35,2	33,1	34,0	24,8	22,3	17,6	15,6	13,1	9,81	8,1	6,8	6,7	6,6
D	9,3	8,2	8,4	6,2	8,5	4,4	4,7	5,5	5,8	3,7	7,0	6,1	4,9
F	18,0	14,1	12,8	13,2	8,4	6,2	7,3	4,5	4,8	3,5	5,1	4,6	4,5
$\bar{x}$	24,0	22,6	20,2	16,9	15,3	11,6	10,8	9,7	8,7	7,4	7,3	6,4	6,2
$\pm s$	12,3	12,6	10,8	8,6	8,2	7,5	5,8	5,8	5,1	5,6	3,5	3,2	4,0

Tabelle A3: Mittlere ($\bar{x} \pm s$) spezifische ^{14}C - und ^3H -Radioaktivität von Glucose im Plasma hungerner Zwergziegen vor (Kontrollperiode), während (Belastungsperiode) und nach (Erholungsphase) einer exogener Glucosebelastung (V_A , K_{A2}) bzw. bei fehlender exogener Glucosebelastung (K_{A1})

1) Kontrollperiode

Versuchsdauer (min)	a) ^3H -Glc-SA 0,1 % D/mmol	
	$V_A + K_{A2}$ (n=10)	K_{A1} (n=4)
Kontrollperiode (0-140 min):		
5	4,5 $\pm$ 1,1	4,1 $\pm$ 1,2
10	10,3 $\pm$ 2,1	9,7 $\pm$ 2,5
15	14,3 $\pm$ 2,8	15,9 $\pm$ 3,9
20	18,2 $\pm$ 3,3	19,1 $\pm$ 4,7
30	25,1 $\pm$ 4,6	24,9 $\pm$ 5,6
40	32,1 $\pm$ 5,0	30,7 $\pm$ 6,7
50	37,5 $\pm$ 7,2	33,6 $\pm$ 8,1
60	41,9 $\pm$ 7,3	41,3 $\pm$ 7,5
80	53,7 $\pm$ 11,3	49,3 $\pm$ 13,5
100	56,1 $\pm$ 10,0	57,9 $\pm$ 14,7
120	62,0 $\pm$ 9,5	61,2 $\pm$ 17,3
140	65,9 $\pm$ 10,3	67,8 $\pm$ 17,5

a) Infusionsdauer: 0 - 600 min

Tabelle A3 (Fortsetzung):

2) Belastungsperiode und Erholungsphase

Versuchsdauer (min)	$^3\text{H-Glc-SA}^{\text{a)}$ (0,1 % D/mmol)		$^{14}\text{C-Glc-SA}^{\text{b)}$ (0,1 % D/mmol)	
	$V_{\text{A}+\text{K}_{\text{A}2}}$ (n=10)	$K_{\text{A}1}$ (n=4)	$V_{\text{A}+\text{K}_{\text{A}2}}$ (n=10)	$K_{\text{A}1}$ (n=4)
Behandlungsperiode (140-280 min):				
145	47,5 $\pm$ 7,9	67,8 $\pm$ 17,9	4,1 $\pm$ 0,8	7,2 $\pm$ 1,9
150	39,5 $\pm$ 7,2	69,1 $\pm$ 17,3	6,1 $\pm$ 0,9 ^{c)}	10,3 $\pm$ 3,1
155	32,6 $\pm$ 4,5	70,6 $\pm$ 15,6	7,0 $\pm$ 1,2	15,8 $\pm$ 2,5
160	28,5 $\pm$ 3,3	71,4 $\pm$ 18,2	7,7 $\pm$ 1,0	19,5 $\pm$ 2,8
170	25,3 $\pm$ 3,3	71,6 $\pm$ 21,2	8,6 $\pm$ 1,1	25,8 $\pm$ 3,7
180	22,4 $\pm$ 3,0	73,1 $\pm$ 20,2	9,5 $\pm$ 1,3	31,9 $\pm$ 4,1
190	20,7 $\pm$ 2,7	74,9 $\pm$ 18,5	9,8 $\pm$ 1,3	37,3 $\pm$ 3,9
200	19,3 $\pm$ 3,4	76,8 $\pm$ 21,2	10,1 $\pm$ 1,4	43,2 $\pm$ 5,1
220	18,0 $\pm$ 2,3	80,7 $\pm$ 21,3	10,7 $\pm$ 1,4	50,8 $\pm$ 6,9
240	16,6 $\pm$ 2,0	81,2 $\pm$ 21,6	10,9 $\pm$ 1,2	60,4 $\pm$ 5,3
260	16,1 $\pm$ 1,5	82,2 $\pm$ 22,2	11,2 $\pm$ 1,3	65,2 $\pm$ 4,2
280	15,0 $\pm$ 1,3	83,3 $\pm$ 21,7	11,4 $\pm$ 1,2	70,2 $\pm$ 8,0
Erholungsphase (280-480 min):				
285	16,3 $\pm$ 1,5	91,1 $\pm$ 22,1	11,0 $\pm$ 1,3 ^{c)}	63,5 $\pm$ 3,6
290	16,9 $\pm$ 1,7	80,9 $\pm$ 21,5	11,1 $\pm$ 1,1	56,2 $\pm$ 4,0
295	18,3 $\pm$ 2,0	84,8 $\pm$ 20,1	11,2 $\pm$ 1,5	55,8 $\pm$ 2,6
300	19,0 $\pm$ 2,0	81,8 $\pm$ 22,0	11,0 $\pm$ 1,3	53,8 $\pm$ 1,1
310	20,3 $\pm$ 2,3	84,1 $\pm$ 21,9	10,8 $\pm$ 1,1	48,9 $\pm$ 1,7 ^{d)}
320	22,4 $\pm$ 2,2	83,6 $\pm$ 22,3	10,8 $\pm$ 1,2	42,9 $\pm$ 4,1
330	24,5 $\pm$ 2,4	84,7 $\pm$ 22,9	10,6 $\pm$ 1,3	40,5 $\pm$ 3,3
340	26,0 $\pm$ 2,8	86,6 $\pm$ 25,6	10,6 $\pm$ 1,3 ^{c)}	37,1 $\pm$ 2,8
360	28,5 $\pm$ 4,1 ^{c)}	87,4 $\pm$ 24,9	10,2 $\pm$ 1,2 ^{c)}	32,7 $\pm$ 2,5
380	34,3 $\pm$ 8,1	88,8 $\pm$ 27,2	10,1 $\pm$ 1,1	29,3 $\pm$ 2,2
400	38,0 $\pm$ 4,9	89,5 $\pm$ 29,3	9,8 $\pm$ 0,9	25,3 $\pm$ 3,0
430	46,7 $\pm$ 3,8	88,6 $\pm$ 26,6	9,7 $\pm$ 1,0	20,9 $\pm$ 1,6
460	54,7 $\pm$ 4,5	87,4 $\pm$ 30,9	9,4 $\pm$ 1,1	16,8 $\pm$ 2,2 ^{d)}
480	64,9 $\pm$ 6,6	89,5 $\pm$ 28,8	9,4 $\pm$ 1,3	15,9 $\pm$ 1,4 ^{d)}

b) Infusionsdauer: 140 - 280 min

c) n = 9

d) n = 3

Tabelle A4b: Radioaktivitätskonzentration von ^{14}C -Glucose vor bzw. im Versuchsabschnitt 4 (480-600 min) der Kontrollversuche K_{A1} (keine Glucosebelastung im Versuchsabschnitt 2: 140-280 min) und K_{A2} (keine Glucagonbehandlung im Versuchsabschnitt 4: 480-600 min)

Ver- suchs- tier	Versuchsdauer (min):															
	400	430	460	480	490	500	510	520	530	540	550	560	570	580	590	600
¹⁴ C-Glc-RA (% D/l)																
Kontrollversuch K _{A1}																
B	8,4	6,8	5,8	5,1	4,8	4,5	5,3	4,9	4,4	4,5	4,1	3,7	3,6	3,1	3,0	3,3
C	7,8	7,0	6,6	5,8	5,0	4,3	4,3	4,0	3,6	3,3	3,7	3,3	3,2	3,1	2,8	3,0
D	7,8	6,5	4,9	4,6	4,4	4,4	4,2	3,9	3,6	3,4	3,3	3,1	3,0	2,9	3,0	2,8
F	8,1	6,7	5,2	4,6	3,9	3,8	3,8	3,6	3,6	-	3,2	3,2	3,3	3,3	3,4	3,0
$\bar{x}$	8,0	6,7	5,6	5,0	4,5	4,3	4,4	4,1	3,8	3,7	3,6	3,3	3,3	3,1	3,1	3,0
$\pm s$	0,3	0,2	0,7	0,6	0,5	0,3	0,6	0,6	0,4	0,7	0,4	0,3	0,3	0,2	0,3	0,2
Kontrollversuch K _{A2}																
B	9,4	7,5	6,0	5,0	3,9	3,3	3,2	2,4	2,3	2,0	1,8	1,6	1,4	1,5	1,4	1,4
C	9,2	7,8	6,3	5,6	4,9	4,6	4,4	4,0	3,4	3,3	3,0	2,8	2,5	2,4	2,3	2,0
D	8,4	7,0	6,0	5,7	4,8	4,8	4,2	4,0	3,7	3,0	2,8	2,7	2,5	2,4	2,1	2,0
F	4,4	3,7	2,6	2,2	2,1	1,9	1,6	1,6	1,5	1,5	1,5	1,4	1,3	1,2	1,2	1,2
$\bar{x}$	7,8	6,3	5,1	3,9	3,5	3,0	2,5	2,5	2,2	1,9	2,0	1,8	1,7	1,8	1,7	1,8
$\pm s$	7,8	6,5	5,2	4,5	3,8	3,5	3,2	2,9	2,6	2,3	2,2	2,1	1,9	1,9	1,7	1,7
$\pm s$	2,0	1,6	1,5	1,5	1,1	1,2	1,2	1,1	0,9	0,8	0,6	0,6	0,7	0,5	0,5	0,4

Tabelle A5a: Radioaktivitätskonzentration und spezifische Radioaktivität von ^3H -Glucose vor bzw. im Versuchsabschnitt 4 (480-600 min) der Vollversuche V_A

Ver- suchs- tier	Versuchsdauer (min):																
	400	430	460	480	490	500	510	520	530	540	550	560	570	580	590	600	
³ H-Glc-RA (% D/l)																	
A	37,3	37,0	34,1	33,9	30,3	39,7	30,9	33,7	27,1	29,2	26,7	27,0	26,9	25,6	26,0	26,2	
B	36,1	39,8	39,0	39,5	41,7	33,9	42,1	32,0	33,4	32,4	27,5	33,0	33,6	32,4	32,4	32,7	
C	33,0	36,5	36,4	34,2	35,9	34,9	35,2	32,0	34,0	30,5	31,8	31,4	29,5	31,5	34,4	31,7	
D	26,7	25,8	25,1	22,9	25,1	20,7	22,4	22,2	22,4	22,9	24,0	23,3	21,6	21,3	23,1	24,3	
F	32,4	32,5	32,7	29,8	31,5	30,5	28,2	30,4	27,4	29,2	31,4	32,4	32,8	35,7	35,2	35,7	
$\bar{x}$	33,1	34,3	33,5	32,1	32,9	31,9	31,8	30,1	28,9	28,8	28,3	29,4	28,9	29,3	30,2	30,1	
$\pm s$	4,1	5,4	5,2	6,2	6,2	7,1	7,4	4,5	4,8	3,6	3,3	4,1	4,9	5,8	5,4	4,7	
³ H-Glc-SA (0,1 % D/mmol)																	
A	40,9	45,4	57,2	69,2	66,6	90,5	75,6	81,6	82,8	69,9	63,1	62,2	53,9	48,9	46,2	43,2	
B	35,5	45,7	53,8	65,3	74,6	74,6	84,1	74,7	80,3	87,2	81,3	79,2	78,3	69,2	72,3	68,7	
C	33,0	45,4	53,4	57,8	63,7	67,8	68,8	73,6	76,9	76,8	76,4	75,3	69,9	70,2	76,6	65,2	
D	37,8	46,5	57,2	70,8	75,9	75,8	78,7	91,3	95,1	83,0	88,3	76,4	64,3	57,3	58,5	56,4	
F	42,4	51,1	62,2	64,8	76,7	76,8	75,8	80,7	76,7	65,3	60,6	58,1	49,9	49,1	46,6	45,5	
$\bar{x}$	37,9	46,8	56,8	65,6	71,5	77,1	76,6	80,4	82,6	76,5	74,0	70,3	63,3	59,0	60,0	55,9	
$\pm s$	3,9	2,5	3,5	5,1	5,9	8,3	5,5	7,0	7,6	9,0	11,8	9,4	11,6	10,4	14,1	11,6	

Tabelle A5b: Radioaktivitätskonzentration und spezifische Radioaktivität von ^3H -Glucose vor bzw. im Versuchsabschnitt 4 (480-600 min) der Vollversuche V_A

Ver- suchs- tier	Versuchsdauer (min):															
	400	430	460	480	490	500	510	520	530	540	550	560	570	580	590	600
³ H-Glc-RA (% D/l)																
A	37,3	37,0	34,1	33,9	30,3	39,7	30,9	33,7	27,1	29,2	26,7	27,0	26,9	25,6	26,0	26,2
B	36,1	39,8	39,0	39,5	41,7	33,9	42,1	32,0	33,4	32,4	27,5	33,0	33,6	32,4	32,4	32,7
C	33,0	36,5	36,4	34,2	35,9	34,9	35,2	32,0	34,0	30,5	31,8	31,4	29,5	31,5	34,4	31,7
D	26,7	25,8	25,1	22,9	25,1	20,7	22,4	22,2	22,4	22,9	24,0	23,3	21,6	21,3	23,1	24,3
F	32,4	32,5	32,7	29,8	31,5	30,5	28,2	30,4	27,4	29,2	31,4	32,4	32,8	35,7	35,2	35,7
$\bar{x}$	33,1	34,3	33,5	32,1	32,9	31,9	31,8	30,1	28,9	28,8	28,3	29,4	28,9	29,3	30,2	30,1
$\pm s$	4,1	5,4	5,2	6,2	6,2	7,1	7,4	4,5	4,8	3,6	3,3	4,1	4,9	5,8	5,4	4,7
³ H-Glc-SA (0,1 % D/mmol)																
A	40,9	45,4	57,2	69,2	66,6	90,5	75,6	81,6	82,8	69,9	63,1	62,2	53,9	48,9	46,2	43,2
B	35,5	45,7	53,8	65,3	74,6	74,6	84,1	74,7	80,3	87,2	81,3	79,2	78,3	69,2	72,3	68,7
C	33,0	46,4	53,4	57,8	63,7	67,8	68,8	73,6	76,9	76,8	76,4	75,3	69,9	70,2	76,6	65,2
D	37,8	46,5	57,2	70,8	75,9	75,8	78,7	91,3	95,1	83,0	88,3	76,4	64,3	57,3	58,5	56,4
F	42,4	51,1	62,2	64,8	76,7	76,8	75,8	80,7	76,7	65,3	60,6	58,1	49,9	49,1	46,6	45,5
$\bar{x}$	37,9	46,8	56,8	65,6	71,5	77,1	76,6	80,4	82,6	76,5	74,0	70,3	63,3	59,0	60,0	55,9
$\pm s$	3,9	2,5	3,5	5,1	5,9	8,3	5,5	7,0	7,6	9,0	11,8	9,4	11,6	10,4	14,1	11,6

Tabelle A5c: Spezifische Radioaktivität von ^3H -Glucose vor bzw. im Versuchsabschnitt 4 (480-600 min) Kontrollversuche K_{A1} (keine Glucosebelastung im Versuchsabschnitt 2: 140-280 min) und K_{A2} (keine Glucagonbehandlung im Versuchsabschnitt 4: 480-600 min)

Ver- suchs- tier	Versuchsdauer (min):														
	400	430	460	480	500	510	520	530	540	550	560	570	580	590	600
^3H -Glc-SA (0,1 % D/mmol)															
Kontrollversuch K_{A1}															
B	132,8	128,9	133,0	132,6	124,9	122,8	126,2	117,6	121,2	108,7	105,0	100,8	90,4	90,1	95,4
D	70,7	71,4	64,4	74,8	76,1	79,3	77,7	71,2	65,0	62,3	60,3	56,4	51,9	53,0	52,6
F	82,2	76,8	75,5	78,5	83,5	89,6	70,7	62,7	-	55,7	58,4	51,1	41,3	39,8	36,9
$\bar{x}$	95,2	92,4	90,9	95,3	94,8	97,2	91,5	83,8	93,1	75,6	74,6	69,4	61,2	61,0	61,6
$\pm s$	33,1	31,7	36,8	32,4	26,8	22,8	30,2	29,6	39,8	28,9	26,4	27,3	25,8	26,1	30,3
Kontrollversuch K_{A2}															
B	35,6	46,8	54,3	67,4	73,5	85,4	82,9	93,6	96,6	102,0	103,6	89,4	90,3	90,4	80,8
C	32,0	40,2	46,9	52,7	57,4	63,5	68,7	64,1	68,3	70,7	74,5	82,8	85,0	89,6	85,4
D	34,4	40,8	50,1	59,1	66,2	68,2	65,9	70,5	72,1	67,8	67,3	66,7	62,5	65,6	63,3
F	42,6	52,6	62,6	71,7	85,0	87,7	92,8	96,2	96,4	106,1	109,8	110,6	108,9	100,5	92,9
$\bar{x}$	36,17	45,09	53,48	62,70	70,52	76,17	77,57	81,12	83,31	86,66	88,78	87,38	86,66	86,54	80,59
$\pm s$	4,54	5,79	6,79	8,47	11,69	12,14	12,54	16,18	15,25	20,20	21,03	18,22	19,09	14,81	12,54

Tabelle A6: Mittlerer ($\bar{x} \pm s$) $[6-^3H]$ -Glucose-spezifischer Glucosefluß im Versuchsabschnitt 3 (Erholungsphase) der Versuche V_A und K_{A2} bzw. K_{A1} ($n = 8$ bzw. $n = 4$)

Versuchszeit (min)	Glucosebruttofluß (IRL) gemessen über $[6-^3H]$ -Glc: ohne Glucosebelastung (K_{A1})	mit Glucosebelastung ($V_A; K_{A2}$) ($mmol \cdot h^{-1} \cdot kg^{-0,75}$)
285	0,940 $\pm$ 0,148	4,694 $\pm$ 0,705 ^{a)}
290	0,954 $\pm$ 0,187	4,394 $\pm$ 0,546 ^{a)}
295	0,893 $\pm$ 0,121	4,269 $\pm$ 0,805
300	0,912 $\pm$ 1,126	4,077 $\pm$ 0,769
310	0,870 $\pm$ 0,146	3,847 $\pm$ 0,678
320	0,914 $\pm$ 0,145	3,482 $\pm$ 0,584
330	0,840 $\pm$ 0,150 ^{b)}	3,186 $\pm$ 0,560
340	0,891 $\pm$ 0,146	3,004 $\pm$ 0,521
360	0,875 $\pm$ 0,142	2,584 $\pm$ 0,531
380	0,849 $\pm$ 0,140	2,311 $\pm$ 0,394 ^{a)}
400	0,866 $\pm$ 0,169	2,080 $\pm$ 0,344
430	0,866 $\pm$ 0,154	1,661 $\pm$ 0,252
460	0,896 $\pm$ 0,199	1,391 $\pm$ 0,230
480	0,849 $\pm$ 0,150	1,199 $\pm$ 0,197

a) $n = 7$

b) $n = 3$

Tabelle A7: Mittlere ($\bar{x} \pm s$) Glucosekonzentration im Plasma hungernder Zwergziegen ohne (V_{B-H}) und mit Phlorizinvorbehandlung (V_{B-H+P}) vor (Kontrollperiode), während (Belastungsperiode) und nach (Erholungsphase) einer exogenen Glucosebelastung ($n = 4$)

1) Kontrollperiode

Versuchsdauer (min)	Glucose (mmol/l)	
	Hungerzustand (V_{B-H})	Hungerzustand + Phlorizin- vorbehandlung (V_{B-H+P})
Kontrollperiode (0-140 min):		
0	3,40 $\pm$ 0,21	2,95 $\pm$ 0,23
5	3,32 $\pm$ 0,25	3,19 $\pm$ 0,35
10	3,30 $\pm$ 0,20	2,99 $\pm$ 0,39
15	3,28 $\pm$ 0,19	3,00 $\pm$ 0,29
20	3,29 $\pm$ 0,26	3,11 $\pm$ 0,25
30	3,29 $\pm$ 0,18	3,04 $\pm$ 0,17
40	3,36 $\pm$ 0,18	3,06 $\pm$ 0,34
50	3,30 $\pm$ 0,13	3,00 $\pm$ 0,35
60	3,28 $\pm$ 0,15	2,94 $\pm$ 0,38
80	3,26 $\pm$ 0,07	3,01 $\pm$ 0,33
100	3,25 $\pm$ 0,15	3,12 $\pm$ 0,34
120	3,33 $\pm$ 0,20	3,09 $\pm$ 0,32
140	3,31 $\pm$ 0,20	3,08 $\pm$ 0,26

Tabelle A7 (Fortsetzung):

2) Belastungsperiode und Erholungsphase

Versuchsdauer (min)	Glucose (mmol/l)	
	Hungerzustand (V_{B-H})	Hungerzustand + Phlorizin- vorbehandlung (V_{B-H+P})
Behandlungsperiode (140-280 min):		
145	4,86 $\pm$ 0,34	4,74 $\pm$ 0,20
150	6,14 $\pm$ 0,32	5,89 $\pm$ 0,65
155	7,17 $\pm$ 0,63	6,88 $\pm$ 1,03
160	8,00 $\pm$ 0,42	7,87 $\pm$ 1,21
170	9,92 $\pm$ 1,15	9,04 $\pm$ 1,26
180	10,85 $\pm$ 1,31	10,27 $\pm$ 1,53
190	11,72 $\pm$ 2,08	11,44 $\pm$ 1,65
200	13,29 $\pm$ 2,09	12,49 $\pm$ 2,04
220	14,88 $\pm$ 2,92	14,25 $\pm$ 2,91
240	16,13 $\pm$ 3,25	16,32 $\pm$ 4,45
260	17,49 $\pm$ 3,60	17,26 $\pm$ 4,26
280	18,50 $\pm$ 3,67	17,94 $\pm$ 4,86
Erholungsphase (280-480 min):		
285	16,92 $\pm$ 3,90	16,17 $\pm$ 5,10
290	15,60 $\pm$ 3,27	15,29 $\pm$ 5,21
295	15,18 $\pm$ 3,35	14,24 $\pm$ 4,66
300	13,66 $\pm$ 3,27	13,58 $\pm$ 4,25
310	12,84 $\pm$ 3,03	12,33 $\pm$ 3,95
320	12,11 $\pm$ 3,51	11,16 $\pm$ 3,57
330	11,20 $\pm$ 3,17	9,86 $\pm$ 3,54
340	10,40 $\pm$ 3,01	9,32 $\pm$ 3,36
360	9,01 $\pm$ 3,10	7,89 $\pm$ 2,92
380	7,75 $\pm$ 2,61	6,91 $\pm$ 2,29
400	6,73 $\pm$ 2,53	6,10 $\pm$ 2,15
430	5,46 $\pm$ 1,75	5,41 $\pm$ 2,05
460	4,82 $\pm$ 1,38	4,65 $\pm$ 1,73
480	3,95 $\pm$ 1,16	4,28 $\pm$ 1,48

Tabelle A8: Plasmaglukosekonzentration im Versuchsabschnitt 4 (480-660 min) der Versuchsreihe VB bei hungernden Zwergziegen ohne (H) und mit Phlorizinvorbehandlung (H+P)

Versuchstier	Versuchsdauer (min):										
	480	490	500	510	520	530	540	560	580	600	620 640 660
Glucose (mmol/l)											
Versuch VB-H											
B	4,99	4,80	4,44	3,99	3,79	3,37	3,05	2,96	3,66	3,79	4,01 4,20 4,86
C	4,90	4,68	4,10	3,89	3,60	3,47	3,02	2,98	2,94	3,41	3,50 3,81 4,06
D	3,13	2,95	2,67	2,65	2,63	2,57	3,29	4,18	4,35	4,35	4,05 4,40 4,47
F	2,97	2,71	2,65	2,63	2,77	2,85	3,50	4,08	4,52	5,39	5,75 6,11 6,05
$\bar{x}$	4,00	3,79	3,47	3,20	3,20	3,07	3,05	3,33	3,83	4,24	4,33 4,63 4,86
$\pm s$	1,10	1,11	0,94	0,58	0,58	0,43	0,36	0,52	0,69	0,86	0,98 1,02 1,06
Versuch VB-H+P											
B	4,75	4,30	4,12	3,84	3,21	2,99	2,94	2,59	2,78	2,64	2,71 3,01 3,18
D	3,37	3,15	3,11	3,02	2,93	3,09	2,87	2,89	3,25	3,51	3,50 3,65 3,88
F	2,85	2,95	3,09	2,93	2,68	3,27	3,35	3,85	4,56	4,95	5,21 5,49 5,45
$\bar{x}$	4,28	4,15	4,00	3,75	3,45	3,55	3,45	3,44	3,67	3,85	3,94 4,13 4,22
$\pm s$	1,48	1,49	1,22	1,06	1,05	0,87	0,81	0,84	0,81	1,00	1,08 1,06 0,95

Tabelle A9: Spezifische Radioaktivität von ^3H -Glucose im Versuchsabschnitt 4 (480-660 min) der Versuchsreihe B bei hungernden Zwergziegen ohne (H) und mit Phlorizinvorbehandlung (H+P)

Versuchstier	Versuchsdauer (min)											
	480	490	500	510	520	530	540	560	580	600	620	640 660
^3H -Glc-SA (0,1 % D/ mmol)												
Versuch V _{B-H}												
B	53,9	57,2	62,9	60,7	66,0	69,5	73,6	70,4	62,7	56,7	55,4	53,9 50,6
C	54,4	56,5	61,1	63,6	63,9	67,5	77,6	75,2	68,3	68,1	64,1	59,0 58,1
D	59,5	63,1	68,1	68,7	74,9	71,8	68,4	60,6	52,5	50,9	54,6	50,3 50,5
F	-	-	81,2	81,7	90,2	90,7	65,8	60,5	54,5	52,8	54,7	56,2 56,5
$\bar{x}$	55,9	58,9	68,3	68,7	73,7	74,9	71,3	66,7	59,5	57,1	57,2	54,8 53,9
+s	3,1	3,7	9,1	9,3	12,0	10,7	5,3	7,4	7,3	7,7	4,6	3,8 4,0
Versuch V _{B-H+P}												
B	54,5	63,9	64,7	67,2	72,8	77,8	80,4	85,3	79,0	75,0	76,8	66,4 65,6
C	68,0	65,9	72,1	75,2	79,1	20,7	85,8	87,4	90,2	90,9	91,3	86,5 91,0
D	69,9	78,5	82,7	87,5	89,3	82,1	90,8	88,5	86,9	82,7	81,9	81,2 78,5
F	64,1	69,7	56,3	68,5	72,0	63,6	54,5	55,7	51,0	49,4	47,2	43,6 43,1
$\bar{x}$	64,1	69,5	68,9	74,6	78,3	76,0	77,9	79,2	76,8	75,5	74,3	69,4 69,5
+s	8,4	6,5	11,2	9,3	8,0	8,5	16,2	15,8	17,8	17,9	10,0	19,2 10,5

a) nicht bestimmt

Tabelle A10: Mittlere ($\bar{x} \pm s$) ^{14}C -RA und ^{14}C -SA von Plasmaglucose bei hungernden Zwergziegen ohne (H) und mit (H+P) Phlorizinvorbehandlung vor (Kontrollperiode), während (Belastungsperiode) und nach (Erholungsphase) einer exogenen Glucosebelastung bzw. während (Kontroll- und Belastungsperiode) und nach (Erholungsphase) einer intravenösen $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ -Dauerinfusion (n=4)

1) Kontrollperiode

Versuchsdauer (min)	^{14}C -Glc-RA ^{a)} (0,01 % D/l)		^{14}C -Glc-SA ^{a)} (% D/mol)	
	$V_{\text{B-H}}$	$V_{\text{B-H+P}}$	$V_{\text{B-H}}$	$V_{\text{B-H+P}}$
Kontrollperiode (0-140 min):				
5	0,4 $\pm$ 0,2	0,7 $\pm$ 0,6	11,2 $\pm$ 5,7	23,4 $\pm$ 16,8
10	0,5 $\pm$ 0,2	0,8 $\pm$ 0,4	16,3 $\pm$ 4,5	26,1 $\pm$ 12,4
15	0,8 $\pm$ 0,5	1,3 $\pm$ 0,5	27,7 $\pm$ 18,6	43,3 $\pm$ 16,9
20	0,9 $\pm$ 0,5	1,8 $\pm$ 0,7	29,5 $\pm$ 16,8	57,3 $\pm$ 21,9
30	1,5 $\pm$ 0,5	2,2 $\pm$ 0,7	48,1 $\pm$ 16,2	62,4 $\pm$ 19,9
40	2,1 $\pm$ 0,6	2,7 $\pm$ 0,5	61,0 $\pm$ 20,2	84,5 $\pm$ 20,9
50	2,6 $\pm$ 0,6	3,1 $\pm$ 0,8	79,8 $\pm$ 20,3	108,8 $\pm$ 42,4
60	3,1 $\pm$ 0,5	3,5 $\pm$ 0,8	93,7 $\pm$ 19,0	124,8 $\pm$ 50,5
80	4,4 $\pm$ 1,3	4,8 $\pm$ 1,3	132,8 $\pm$ 43,5	162,1 $\pm$ 61,3
100	5,4 $\pm$ 1,0	5,9 $\pm$ 1,5	172,0 $\pm$ 40,5	196,0 $\pm$ 74,4
120	6,9 $\pm$ 2,1	7,0 $\pm$ 1,7	209,8 $\pm$ 70,9	252,0 $\pm$ 93,9
140	8,0 $\pm$ 2,1	8,0 $\pm$ 2,0	239,9 $\pm$ 73,3	287,2 $\pm$ 99,3

a) standardisiert unter Annahme des Einbaus von je einem Molekül $^{14}\text{CO}_2$ in ein über die Gluconeogenese entstandenes Glucosemolekül (in % des inf. NaHCO_3/h)

Tabelle A10 (Fortsetzung):

2) Belastungsperiode und Erholungsphase

Versuchs- dauer (min)	$^{14}\text{C-Glc-RA}$ (0,01 % D/l) ^{a)}		$^{14}\text{C-Glc-SA}$ ^{a)} (% D/mol)	
	V_{B-H}	V_{B-H+P}	V_{B-H}	V_{B-H+P}
Behandlungsperiode (140-280 min):				
145	7,9 $\pm$ 1,8	8,6 $\pm$ 2,2	162,4 $\pm$ 39,2	189,2 $\pm$ 44,4
150	8,5 $\pm$ 2,1	8,6 $\pm$ 2,6	136,7 $\pm$ 28,0	155,8 $\pm$ 32,6
155	8,9 $\pm$ 2,0	9,0 $\pm$ 2,7	123,0 $\pm$ 19,0	138,0 $\pm$ 32,5
160	9,2 $\pm$ 2,3	9,0 $\pm$ 2,6	114,4 $\pm$ 26,7	113,8 $\pm$ 16,4
170	9,1 $\pm$ 2,5	9,3 $\pm$ 2,3	96,3 $\pm$ 15,5	103,0 $\pm$ 14,0
180	3,7 $\pm$ 2,3	9,2 $\pm$ 1,9	90,5 $\pm$ 12,1	89,1 $\pm$ 9,1
190	9,8 $\pm$ 2,1	9,9 $\pm$ 1,8	84,3 $\pm$ 18,6	86,8 $\pm$ 10,0
200	11,0 $\pm$ 3,6	10,1 $\pm$ 2,0	81,7 $\pm$ 20,2	81,0 $\pm$ 5,9
220	12,6 $\pm$ 2,6	10,6 $\pm$ 2,3	77,1 $\pm$ 19,1	74,8 $\pm$ 7,6
240	11,5 $\pm$ 4,1	11,3 $\pm$ 3,2	70,8 $\pm$ 20,7	69,7 $\pm$ 6,4
260	11,5 $\pm$ 3,4	12,0 $\pm$ 3,3	71,2 $\pm$ 19,4	69,4 $\pm$ 10,0
280	12,1 $\pm$ 3,7	11,9 $\pm$ 3,4	65,0 $\pm$ 13,3	66,6 $\pm$ 7,9
Erholungsphase (280-480 min):				
285	12,6 $\pm$ 4,2	12,0 $\pm$ 3,7	74,4 $\pm$ 16,5	74,6 $\pm$ 10,8
290	12,1 $\pm$ 3,2	12,1 $\pm$ 3,9	77,8 $\pm$ 18,0	79,3 $\pm$ 12,5
295	12,1 $\pm$ 3,1	11,9 $\pm$ 3,6	75,7 $\pm$ 12,0	84,1 $\pm$ 13,9
300	11,3 $\pm$ 2,3	11,6 $\pm$ 3,3	86,2 $\pm$ 16,8	87,7 $\pm$ 17,2
310	11,6 $\pm$ 3,0	11,6 $\pm$ 3,3	91,4 $\pm$ 21,5	95,9 $\pm$ 19,0
320	11,3 $\pm$ 3,4	12,1 $\pm$ 3,8	95,8 $\pm$ 20,0	101,6 $\pm$ 13,0
330	11,3 $\pm$ 3,3	11,1 $\pm$ 3,8	103,6 $\pm$ 31,6	116,6 $\pm$ 22,4
340	11,6 $\pm$ 3,5	10,4 $\pm$ 3,8	116,8 $\pm$ 37,7	116,4 $\pm$ 14,6
360	10,7 $\pm$ 3,0	10,0 $\pm$ 3,6	128,5 $\pm$ 56,6	127,8 $\pm$ 26,1
380	10,9 $\pm$ 2,5	9,8 $\pm$ 3,4	150,0 $\pm$ 56,2	145,2 $\pm$ 25,8
400	9,5 $\pm$ 3,2	9,4 $\pm$ 3,4	176,2 $\pm$ 82,8	158,2 $\pm$ 31,9
430	9,3 $\pm$ 2,7	9,7 $\pm$ 3,1	223,9 $\pm$ 98,3	190,1 $\pm$ 48,7
460	9,6 $\pm$ 3,6	9,2 $\pm$ 3,4	245,2 $\pm$ 103,9	205,8 $\pm$ 54,8
480	9,7 $\pm$ 3,5	9,0 $\pm$ 3,3	265,1 $\pm$ 125,7	216,5 $\pm$ 61,5

Tabelle A11: Radioaktivitätskonzentration ^{14}C -Glucose im Versuchsabschnitt 4 (480-660 min) der Versuchsreihe B bei hungernden Zwergziegen ohne (H) und mit Phlorizinbehandlung (H+P)

Versuchstier	Versuchsdauer (min):	480	490	500	510	520	530	540	560	580	600	620	640	660
^{14}C -Glc-RA (0,001 % D/l)														
Versuch V _{B-H}														
B		13,80	13,02	13,20	10,80	12,24	12,66	10,44	10,20	10,14	9,84	10,50	10,44	11,76
C		7,50	7,32	6,66	7,08	6,24	6,42	6,60	6,06	5,58	5,76	5,76	5,70	5,94
D		6,29	5,70	6,12	5,74	5,93	5,78	5,21	5,88	6,65	5,98	6,49	5,74	5,89
F		11,34	11,70	10,56	9,54	10,44	11,34	10,08	9,90	12,00	13,44	14,58	15,06	14,58
$\bar{x}$		9,73	9,44	9,13	8,29	8,71	9,10	8,08	8,01	8,59	8,71	9,33	9,24	9,54
$\pm s$		3,46	3,48	3,35	2,30	3,12	3,53	2,58	2,36	2,99	3,69	4,08	4,48	4,34
Versuch V _{B-H+P}														
B		13,70	13,77	13,38	12,98	11,62	11,87	12,15	11,83	11,11	10,23	11,04	9,73	10,09
D		6,80	7,14	6,83	6,45	6,43	6,61	6,25	6,21	5,75	5,96	6,48	5,66	6,22
F		6,44	6,14	4,46	4,72	4,77	4,68	5,40	4,86	5,08	6,44	4,84	6,35	3,95
$\bar{x}$		8,95	8,83	8,31	8,01	7,62	7,80	7,91	7,63	7,31	7,50	7,51	7,23	6,98
$\pm s$		3,34	3,41	3,78	3,56	2,92	3,04	3,00	3,02	2,70	1,91	2,62	1,78	2,58

Bei der Anfertigung der vorliegenden Arbeit haben mir sehr geholfen:

die Leitung des Instituts, indem sie mir die Arbeitsmöglichkeiten zur Verfügung stellte,

Herr Priv. Doz. Dr. M. Stangassinger, der mir das Thema überließ und mich jederzeit gern bei der Durchführung der Versuche sowie der Auswertung der Ergebnisse beraten hat,

Frau B. Amann durch ihre Hilfestellung bei den radiometrischen Bestimmungen und

die Mitarbeiter des Instituts und des Labors, insbesondere Herr Dr. N. Sandner.

Für die Hilfsbereitschaft und gute Zusammenarbeit möchte ich mich an dieser Stelle herzlich bedanken.

LEBENS LAUF

Bettina Maria Dreyer	geb. am 11.2.1960
Eltern	Jürgen Dreyer, Elektroingenieur Ilse Dreyer, geb. Leybold
Familienstand	ledig
Schulbildung	1966-70 Dom-Pedro-Volksschule in München 1970-79 Käthe-Kollwitz-Gymnasium in München 27.6.79 Allgemeine Hochschulreife
Universitätsausbildung:	1979-84 Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München 1985 Staatsexamen 4.6.86 Approbation als Tierärztin seit Mai 1986 Doktorandin bei Herrn Priv. Doz. Dr. M. Stangassinger am Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie der Tiermedizinischen Fakultät der LMU München
Berufstätigkeit:	1.10.86-28.2.87 teilzeitbeschäftigte wissenschaft- liche Hilfskraft am Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie der Tiermedizinischen Fakultät der LMU München seit September 1987 freie Mithilfe in einer Kleintier- klinik und kurativen Großtier- praxis seit März 1988 Mitarbeit in einer Gemischtpraxis

